

# **En farmakokinetisk populasjonsmodell for takrolimus i nyretransplanterte pasienter**

*Utvikling av en modell for formuleringen Prograf®*

**Stine Bryn Tallaksen**



Masteroppgave for graden Master i farmasi  
Avdeling for farmasøytisk biovitenskap  
Farmasøytisk institutt  
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

**UNIVERSITETET I OSLO**

Mai 2011

# **En farmakokinetisk populasjonsmodell for takrolimus i nyretransplanterte pasienter**

*Utvikling av en modell for formuleringen Prograf®*

**Stine Bryn Tallaksen**



Masteroppgave for graden Master i farmasi  
Avdeling for farmasøytisk biovitenskap  
Farmasøytisk institutt  
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

**Universitetet i Oslo**

Mai 2011

Veileder:

Professor Anders Åsberg, Avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk institutt

## Forord

Denne oppgaven er utført ved Avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo i perioden august 2010 til mai 2011.

Først og fremst vil jeg takke min veileder, professor Anders Åsberg for god veiledning og bidrag til oppgaven. Takk for at du alltid har tatt deg tid til å svare på små og store spørsmål, og for all oppmuntring og motivasjon. Ditt bidrag har vært uvurderlig!

Takk til kinetikkgruppen for hyggelige møter og godt samhold, og til alle i 4. etasje for det gode arbeidsmiljøet. En spesiell takk til alle mine medstudenter i 4. etasje. Året hadde ikke blitt det samme uten dere. Takk til Naz Isabella for samarbeidet, og for å dele frustrasjonen over NONMEM.

Takk til venner og familie for støtten.

Og til slutt, takk til min kjære Mikkel for at du har vært der for meg. Takk for korrekturlesingen, og for all støtte, kjærighet, tålmodighet og forståelse du har vist mens jeg har vært inne i masterboblen.

Blindern, mai 2011

Stine Bryn Tallaksen

# Innholdsfortegnelse

<b>FORORD .....</b>	<b>3</b>
<b>INNHALDSFORTEGNELSE.....</b>	<b>4</b>
<b>FORKORTELSER .....</b>	<b>7</b>
<b>SAMMENDRAG.....</b>	<b>9</b>
<b>1. INNLEDNING .....</b>	<b>11</b>
1.1 POPULASJONSFARMAKOKINETIKK .....	11
1.1.1 Innledning .....	11
1.1.2 "Naïve pooled data" analyse.....	13
1.1.3 "Standard two-stage approach (S2S)" .....	13
1.1.4 "Iterative two-stage approach" .....	13
1.1.5 "Nonlinear mixed-effects modelling" .....	14
1.2 NONMEM.....	14
1.2.1 Strukturell modell.....	15
1.2.2 "Random effects" i NONMEM.....	15
1.2.3 "-2 log likelihood (-2LL)" .....	16
1.3 TAKROLIMUS.....	17
1.3.1 Innledning .....	17
1.3.2 Absorpsjon, distribusjon og eliminasjon .....	17
1.3.3 Metabolisme .....	18
1.3.4 Polymorfisme.....	18
1.3.5 Interaksjoner .....	19
1.3.6 Bivirkninger.....	19
1.3.7 Terapimonitorering (TDM) .....	19
1.3.8 Formuleringer.....	20
1.3.9 Farmakokinetiske populasjonsmodeller for takrolimus .....	20
1.4 MÅL FOR OPPGAVEN.....	21
<b>2. MATERIALER OG METODER .....</b>	<b>22</b>
2.1 PASIENTER .....	22
2.1.1 Cinacalcet-studien.....	22
2.1.2 Rimonabant-studien .....	22
2.1.3 Advagraf-studien.....	23
2.2 MODELLBYGGING.....	24
2.3 KOVARIATER .....	26
2.3.1 Kontinuerlige kovariater.....	27
2.3.2 Binomiske kovariater.....	28
2.4 VALIDERING .....	29

---

2.4.1	<i>Jackknife</i> .....	29
2.4.2	<i>Data-splitting</i> .....	30
2.4.3	<i>Statistikk</i> .....	31
<b>3.</b>	<b>RESULTATER</b> .....	<b>32</b>
3.1	MODELLBYGGING .....	32
3.2	KOVARIATER .....	36
3.2.1	<i>Inklusjonstrinnet</i> .....	36
3.2.2	<i>Eksklusjonstrinnet</i> .....	37
3.3	DEN ENDELIGE MODELLEN .....	38
3.3.1	<i>Kontrollfilen for den endelige modellen</i> .....	41
3.4	VALIDERING .....	43
3.4.1	<i>Jackknife</i> .....	43
3.4.2	<i>Data-splitting</i> .....	43
3.5	DEN REDUSERTE MODELLEN .....	46
3.6	KOVARIATER FOR DEN REDUSERTE MODELLEN .....	47
3.6.1	<i>Inklusjonstrinnet</i> .....	47
3.6.2	<i>Eksklusjonstrinnet</i> .....	48
3.7	DEN ENDELIGE REDUSERTE MODELLEN .....	48
3.8	VALIDERING AV DEN REDUSERTE MODELLEN .....	52
3.8.1	<i>Jackknife</i> .....	52
3.8.2	<i>Data-splitting</i> .....	53
<b>4.</b>	<b>DISKUSJON</b> .....	<b>56</b>
4.1	MODELLBYGGING .....	56
4.1.1	<i>1- og 2-kompartimentmodellene</i> .....	56
4.1.2	<i>Interindividuell og residual variasjon</i> .....	58
4.1.3	<i>3-kompartimentmodellene</i> .....	58
4.2	KOVARIATER .....	59
4.3	DEN ENDELIGE MODELLEN .....	61
4.4	VALIDERING .....	62
4.4.1	<i>Jackknife</i> .....	62
4.4.2	<i>Data-splitting</i> .....	63
4.5	DEN REDUSERTE MODELLEN .....	65
4.6	VIDERE ARBEID MED MODELLEN .....	67
<b>5.</b>	<b>KONKLUSJON</b> .....	<b>70</b>
	<b>KILDELISTE</b> .....	<b>71</b>
<b>6.</b>	<b>APPENDIKS</b> .....	<b>75</b>
6.1	DETALJERT OVERSIKT OVER PASIENTKARAKTERISTIKA .....	75
6.2	DELER AV INPUTFIL .....	77
6.3	KONTROLLFIL FOR 1-KOMPARTIMENTMODELLEN UTEN LAG-TID .....	79
6.4	KONTROLLFIL FOR 2-KOMPARTIMENTMODELLEN MED LAG-TID .....	80

---

6.5	KONTROLLFIL FOR 2-KOMPARTMENTMODELLEN MED 3 ERLANG-KOMPARTMENTER.....	81
6.6	KONTROLLFIL FOR 3-KOMPARTMENTMODELLEN MED LAG-TID.....	82
6.7	ANALYSE AV 3-KOMPARTMENTMODELLERNE MED OG UTEN LAG-TID.....	84
6.8	KONSENTRASJON/TID-KURVER FOR ALLE PASIENTENE MED DEN ENDELIGE MODELLEN .....	85
6.9	RESULTATER FRA JACKKNIFE .....	90
6.10	RESULTATER FRA DATA-SPLITTING.....	91
6.11	RESULTATER DATA-SPLITTING – EVALUERING AV PREDIKSJONSEVNE.....	91
6.12	KONTROLLFIL FOR DEN ENDELIGE REDUSERTE MODELLEN .....	94

## Forkortelser

-2LL	-2 log likelihood ("objective function value" i NONMEM)
ABCB1	gensekvens som koder for P-gp
ADME	absorpsjon, distribusjon, metabolisme og eliminasjon
ALAG	lag-tid
C <sub>0</sub>	predose("trough")konsentrasjon
CL	clearance
CRF	case report form
CYP	Cytokrom P-450
df	frihetsgrad
F	biotilgjengelighet
FDA	U.S. Food and Drug Administration
FOCE	first-order conditional estimation
GOF	goodness of fit
Hct	hematokrit
IL-2	interleukin-2
IPRED	individuell predikerte konsentrasjoner
k <sub>a</sub>	absorpsjonshastighetskonstanten
KI	konfidensintervall
k <sub>tr</sub>	overføringshastighetskonstanten mellom Erlang-kompartmenter
ME	mean prediction error
MSE	mean squared prediction error
NM-TRAN	NONMEM-translator (kontrollfil)
NONMEM	Nonlinear mixed effects model
OBS	observerte konsentrasjoner
OFV	objective function value
P-gp	P-glykoprotein
PRED	populasjonspredikerte konsentrasjoner
PXR	pregnan-reseptor X
Q	interkompartimentell clearance
Q <sub>2</sub>	interkompartimentell clearance 2

---

RMSE	root mean squared prediction error
S2S	standard two-stage approach
SD	standardavvik
SE	standardfeil
SPE	standardized prediction error
TDM	terapimonitorering ("therapeutic drug monitoring")
Txt	tid etter transplantasjon
$V_1$	sentralt distribusjonsvolum
$V_2$	perifert distribusjonsvolum
$V_3$	perifert distribusjonsvolum 2
WRES	weighted residuals



# Sammendrag

## Bakgrunn

Takrolimus er et potent immunsuppressivt legemiddel som ofte benyttes i behandlingen av transplanterte pasienter. Med et smalt terapeutisk vindu, store intra- og interindividuelle variasjoner i farmakokinetikk og lav korrelasjon mellom dose og blodkonsentrasjon, er det nødvendig å monitorere blodkonsentrasjonene av takrolimus for å unngå over- eller underbehandling.

Målet med denne oppgaven var å utvikle en farmakokinetisk populasjonsmodell for takrolimus i nyretransplanterte pasienter. En farmakokinetisk populasjonsmodell gir en bedre forståelse av forholdet mellom dose og blodkonsentrasjon, og kan benyttes til å bedre individualiseringen av doseringen av takrolimus. En modell med en passende kompartmentmodell, absorpsjonsprofil og feilmodeller skulle utvikles. Videre skulle ulike faktorer (kovariater) som påvirker farmakokinetikken til takrolimus, og dermed bidrar til intra- og interindividuelle variasjoner, identifiseres og inkluderes i modellen. Deretter skulle modellen valideres.

## Metode

Datamaterialet som ble benyttet for å utvikle modellen var hentet fra 34 stabile nyretransplanterte pasienter inkludert i ulike kliniske studier utført ved Oslo universitetssykehus HF, Rikshospitalet. 12-timers farmakokinetiske profiler ble utført for flere av pasientene, og totalt 576 takrolimuskonsentrasjoner ble benyttet i analysen. Den ordinære formuleringen av takrolimus (Prograf®) ble administrert to ganger daglig til samtlige av pasientene. De populasjonsfarmakokinetiske analysene ble utført ved å benytte NONMEM® (versjon VI level 1.0).

## Resultater

En 2-kompartimentmodell med 1. ordens kinetikk og lag-tid i absorpsjonsfasen ga en god beskrivelse av farmakokinetikken til takrolimus. Interindividuell variasjon ble beskrevet med eksponentielle modeller, og residual variasjon ble beskrevet med en kombinert additiv og proporsjonell modell. Kovariatanalysen viste at *CYP3A5*-polymorfisme og vekt hadde

signifikante effekter på farmakokinetikken til takrolimus. Pasientene med *CYP3A5*\*1/\*3 hadde en høyere tilsynelatende clearance ( $CL/F$ ) og tilsynelatende interkompartimentell clearance ( $Q/F$ ) enn pasientene med *CYP3A5*\*3/\*3, mens økende vekt ga en økende lag-tid ( $ALAG$ ). Ingen kovariater påvirket tilsynelatende sentralt distribusjonsvolum ( $V_1/F$ ), tilsynelatende perifert distribusjonsvolum ( $V_2/F$ ) eller absorpsjonshastighetskonstanten ( $k_a$ ) signifikant. Den interne valideringen viste imidlertid at enkeltpasienter hadde signifikante effekter på parameterestimatene, og at modellen ikke var robust.

## Konklusjoner

Den populasjonsfarmakokinetiske analysen viste at *CYP3A5*-genotype og vekt hadde en signifikant effekt på farmakokinetikken til takrolimus i pasientene, men modellen var ikke robust. Et større og mer heterogent pasientmateriale bør derfor inkluderes i datasettet, og mer arbeid må utføres med modellen før den kan benyttes i klinikken.

# 1. Innledning

## 1.1 Populasjonsfarmakokinetikk

### 1.1.1 Innledning

I farmakoterapien tilpasses legemiddeldosen behovet til hver enkelt pasient for å oppnå god effekt og lav risiko ved bruk. For å tilpasse doseringen utnyttes kunnskap om sammenhengen mellom legemiddeldosen, blodkonsentrasjoner og den terapeutiske effekten.

Farmakokinetikk defineres som en beskrivelse av sammenhengen mellom en legemiddeldose og de resulterende legemiddelkonsentrasjonene i kroppen, med andre ord en beskrivelse av hva kroppen gjør med legemidlet. Dette deles ofte inn i prosessene absorpsjon, distribusjon, metabolisme og eliminasjon (ADME) [1, 2].

En legemiddeldose kan gi ulike blodkonsentrasjoner og effekter. Både intra- og interindividuelle variasjoner i absorpsjon, distribusjon, metabolisme og eliminasjon kan føre til at den samme legemiddeldosen gir ulike blodkonsentrasjoner på ulike tidspunkt i samme individ, eller ulike blodkonsentrasjoner i ulike individer. Kunnskap om farmakokinetikken til legemidler kan bidra til en bedre forståelse for disse variasjonene [2-4].

Populasjonsfarmakokinetikk defineres som studien av variasjon i legemiddelkonsentrasjoner mellom individer som er representative for pasientpopulasjonen, når standard doseringsregimer administreres [5-7]. Hensikten med populasjonsfarmakokinetiske studier er å finne typiske verdier for farmakokinetiske parametre, som absorpsjonshastighetskonstanten ( $k_a$ ), distribusjonsvolum ( $V$ ) eller clearance ( $CL$ ), i pasientpopulasjonen. Den interindividuelle og residuale variasjonen kvantifiseres, da en høy tilfeldig variasjon kan påvirke effekten og tryggheten av legemidlet. Residual variasjon omfatter intraindividuell variasjon, dag-til-dag-variasjon, feil i måling av legemiddelkonsentrasjon og feil i modellen som benyttes til å beregne de ulike parametrene. I tillegg ønskes det i populasjonsfarmakokinetiske studier å identifisere pasientspesifikke karakteristika (kovariater) som påvirker dose-konsentrasjonsforholdet og dermed bidrar til variasjon, samt hvor store disse endringene er [4, 6-9]. Dette kan være faktorer som:

- Alder, høyde, vekt eller kjønn
- Underliggende sykdom som nedsatt nyrefunksjon eller leversvikt
- Effekter fra andre substanser som interagerende legemidler, røyking eller alkoholinntak
- Genetikk

I motsetning til tradisjonelle farmakokinetiske studier som ofte benytter friske frivillige eller nøye utvalgte pasienter, ønskes det i populasjonsfarmakokinetiske studier å kartlegge legemidlets farmakokinetiske egenskaper i den pasientpopulasjonen som bruker legemidlet [4, 10]. Enkelte populasjonsfarmakokinetiske metoder gir muligheten til å utnytte få data fra hver pasient samlet inn på ulike, ikke-standardiserte tidspunkt. Dermed kan pasientmateriale som i tradisjonelle farmakokinetiske studier ville blitt ekskludert benyttes. I tillegg vil pasienter eller pasientgrupper som ikke alltid kan inkluderes i tradisjonelle farmakokinetiske studier kunne undersøkes, som barn og eldre. U.S. Food and Drug Administration (FDA) anbefaler å utføre populasjonsmodellering som en del av legemiddelutvikling blant annet når pasientpopulasjonen i stor grad er heterogen eller dersom det terapeutiske vinduet er forventet å være smalt [7, 9].

Farmakokinetiske populasjonsmodeller gir en bedre forståelse av forholdet mellom dose og blodkonsentrasjon. Videre kan de benyttes til bayesiansk estimering, der kunnskap om populasjonens farmakokinetiske parametre, variasjon, kofaktorer og informasjon om den enkelte pasienten benyttes til å forutsi hvilke blodkonsentrasjoner en bestemt legemiddeldose vil gi. Dette fører til en bedre forutsigbarhet, og kan dermed benyttes til å optimalisere farmakoterapien. Klinisk bruk av populasjonsmodeller vil blant annet være aktuelt for legemidler med et smalt terapeutisk vindu og stor interindividuell og residual variasjon [7, 11].

Nedenfor nevnes noen ulike parametriske populasjonsfarmakokinetiske metoder, der populasjonens farmakokinetiske parametre beskrives med populasjonens typiske verdi og variasjon.

### 1.1.2 "Naïve pooled data" analyse

I denne metoden blir data fra flere individer samlet og behandlet som om de kom fra det samme individet for å estimere de farmakokinetiske parametrene. Metoden vil kun gi et grovt estimat på populasjonens farmakokinetiske parametre, og gjør det ikke mulig å analysere interindividuell variasjon. Det er ikke et hinder å ha få målinger per individ, men et ulikt antall målinger fra ulike individer vil føre til en ubalanse i modellen. Metoden kan gi gode resultater dersom det er lite variasjon mellom individene, for eksempel i enkelte laboratoriedyr, og har blant annet blitt benyttet i dyrestudier der dyret må avlives for å gi et datapunkt.

### 1.1.3 "Standard two-stage approach (S2S)"

Denne tradisjonelle metoden består av to trinn. I det første trinnet beregnes hvert individs farmakokinetiske parametre separat. De individuelle estimatene benyttes videre i neste trinn, der populasjonens gjennomsnitt og variasjon av hver parameter beregnes. I trinn 2 er det også mulig å analysere kovariater. En forutsetning for denne metoden er å ha et rikt datasett, slik at det er nok data fra hvert individ til å estimere hver parameter. Dette er en enkel metode, og kan gi tilstrekkelige, men ikke helt nøyaktige estimater. Metoden har blitt anbefalt ved analyse av data fra farmakokinetiske studier, som gjerne har mange datapunkter per individ.

### 1.1.4 "Iterative two-stage approach"

Metoden tar utgangspunkt i estimater for populasjonens farmakokinetiske parametre. Estimatenes kan for eksempel hentes fra litteraturen eller ved å utføre en S2S. I trinn 1 benyttes estimatene for å beregne hvert individs farmakokinetiske parametre. I trinn 2 beregnes populasjonens gjennomsnitt og standardavvik basert på de nye estimatene. Deretter gjentas trinn 1 og 2 til forskjellen mellom de nye og gamle estimatene ikke er signifikant. Metoden kan både benyttes på rike datasett og datasett med få punkter fra hvert individ, og gir bedre parameterestimater enn S2S.

### 1.1.5 "Nonlinear mixed-effects modelling"

Metoden tar utgangspunkt i studiepopulasjonen som en enhet for å estimere populasjonens gjennomsnittlige parameterverdier, variasjon og kovariasjon. Data fra alle individene analyseres samtidig, men individualiteten til hver pasient beholdes slik at både intra- og interindividuell variasjon kan beregnes.

De ulike parametrene estimeres ved å benytte "maximum likelihood approach", der det estimeres hvor sannsynlige de observerte konsentrasjonene i modellen er, dersom modellens estimer for farmakokinetiske parametre og variasjon er sann. Sannsynligheten til dataene skrives da som en funksjon av modellens farmakokinetiske parametre. De endelige parameterestimater skal maksimere sannsynligheten for de observerte dataene i modellen. Dermed selekteres parameterestimater som gjør dataene mer sannsynlig enn noen annet sett av parameterestimer.

Rike datasett kan benyttes i denne metoden, men det er også mulig å utnytte materialer der det er en ubalanse i dataene eller få data fra hvert individ. Selv datasett der kun ett datapunkt fra hver pasient er samlet inn kan benyttes, men med få datapunkter fra hvert individ kreves et større antall pasienter i datasettet. Dermed har ikke denne metoden de samme begrensingene som S2S, og kan utnytte flere typer pasientmaterialer som bedre representerer pasientpopulasjonen, alt fra tradisjonelle farmakokinetiske studier til rutineprøver [3, 7, 12-16].

## 1.2 NONMEM

NONMEM (nonlinear mixed effects model) er et dataprogram utviklet av L. Sheiner og S. Beal, og er det dataprogrammet som hyppigst benyttes i populasjonsmodellering.

Programmet estimerer farmakokinetiske parametre som omtalt i seksjon 1.1.5. NONMEM bruker en separat inputfil og kontrollfil (NM-TRAN-fil). All relevant pasientinformasjon samles i inputfilen. Informasjon om dose, blodkonsentrasjoner, tidspunkt for prøvetaking og verdier for potensielle kovariater er blant informasjonen som må registreres. I kontrollfilen kodes ulike spesifikasjoner for hvordan dataene skal analyseres. NONMEM benytter både "fixed effects" og "random effects" for å beskrive intra- og interindividuelle variasjoner i dose-konsentrasjonsforholdet, og er dermed en "mixed effects model" [15-17].

### 1.2.1 Strukturell modell

Den strukturelle modellen beskriver de grunnleggende prosessene som undersøkes, som modellens farmakokinetiske parametre, om en 1- eller 2-kompartimentmodell skal testes, og om analysen skal utføres med 0. eller 1. ordens kinetikk. NONMEM uttrykker de ulike farmakokinetiske parametrene med ligninger, og hver ligning estimerer en parameter (theta;  $\theta$ ). Ligningene kan være enkle som illustrert for clearance (CL):

$$TVCL = \theta(1) \text{ Ligning 1}$$

”Fixed effects” er den variasjonen i målte konsentrasjoner som kan forklares ved at populasjonens typiske farmakokinetiske parametre påvirkes av ulike identifiserbare pasientkarakteristika (kovariater), som alder, vekt eller leverfunksjon. Kovariater kan implementeres i den strukturelle modellen på flere måter, som illustrert i seksjon 2.3.1 og 2.3.2 [3, 8, 15, 16].

### 1.2.2 “Random effects” i NONMEM

”Random effects” er en kvantifisering av den tilfeldige variasjonen som ikke kan forklares av identifiserbare faktorer, og omfatter både interindividuell variasjon og residual variasjon [3, 8]. Residual variasjon kan skrives slik:

$$Y_{obs} = T_y + \varepsilon \text{ Ligning 2}$$

der  $Y_{obs}$  er den observerte verdien,  $T_y$  er den sanne verdien og  $\varepsilon$  er tilfeldig feil.  $\varepsilon$  er normalfordelt med gjennomsnitt 0 og varians  $\sigma^2$  ( $N(0, \sigma^2)$ ). Interindividuell variasjon kan skrives slik:

$$X_i = X_{av} + \eta_i \text{ Ligning 3}$$

der  $X_i$  er den individuelle verdien for det  $i$ ende individet,  $X_{av}$  er den gjennomsnittlige verdien og  $\eta_i$  er differansen mellom verdien til det  $i$ ende individet og den gjennomsnittlige verdien.  $\eta$  er normalfordelt med gjennomsnitt 0 og varians  $\omega^2$  ( $N(0, \omega^2)$ ). Det finnes ingen eksakte verdier for epsilon ( $\varepsilon$ ) og eta ( $\eta$ ) da de er tilfeldige, så NONMEM estimerer distribusjonen  $\sigma^2$  og  $\omega^2$  for å redegjøre for residual og interindividuell variasjon. Det er flere måter å uttrykke

residual og interindividuell variasjon på i NONMEM. Noen av de vanligste variasjonsmodellene vises nedenfor:

Additiv variasjonsmodell:  $Verdi = Predikert + error$  **Ligning 4**

Proporsjonell variasjonsmodell:  $Verdi = Predikert * (1 + error)$  **Ligning 5**

Log-normal/eksponentiell variasjonsmodell:  $Verdi = Predikert * exp(error)$  **Ligning 6**

For å estimere residual og interindividuell variasjon beregnes kvadratroten av output-verdiene for henholdsvis sigma og omega. Dersom variasjonsmodellen er additiv, estimeres en absoluttverdi (for eksempel  $\sqrt{\omega^2} = X \mu\text{g/L}$ ). Proporsjonelle og log-normale/eksponentielle variasjonsmodeller estimeres i prosentverdier, og må i tillegg multipliseres med 100 (for eksempel  $(\sqrt{\omega^2}) * 100 = X \%$ ) [3, 15, 16].

### 1.2.3 "-2 log likelihood (-2LL)"

NONMEM benytter "maximum likelihood approach" ved å minimere funksjonen "-2 log likelihood" for å finne de mest sannsynlige populasjonsverdiene. Sannsynligheten for en observasjon kan uttrykkes slik:

$$L = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{1}{2\sigma^2}(Y_{obs}-Y_{pred})^2} \quad \textbf{Ligning 7}$$

der L er sannsynligheten (likelihood),  $Y_{obs}$  er den observerte konsentrasjonen,  $Y_{pred}$  er modellens prediksjon av observasjonen og  $\sigma^2$  er variasjonen i modellen. Sannsynligheten for flere observasjoner er produktet av sannsynligheten for hver enkelt observasjon. -2LL for  $n$  observasjoner kan uttrykkes slik:

$$-2\log(L) = n\log(2\pi) + \sum_{i=1}^n \left( \log(\sigma_i^2) + \frac{(Y_{obs} - Y_{pred})^2}{\sigma_i^2} \right) \quad \textbf{Ligning 8}$$

For å maksimere sannsynlighet må -2LL minimeres. To sannsynligheter kan sammenlignes ved å beregne differansen  $-2\log(L_1/L_2)$ . Denne differansen er  $\chi^2$ -distribuert. Dersom en endring gjøres på kun én parameter, benyttes én frihetsgrad (df). En forskjell i  $-2LL \geq 3,84$  tilsvarer  $p < 0,05$ ,  $\Delta \geq 6,63$  tilsvarer  $p < 0,01$ , og  $\Delta \geq 10,83$  tilsvarer  $p < 0,001$  (1 df).



NONMEM oppgir verdien for -2LL som "objective function value" (OFV). To ulike modeller kan sammenlignes ved å finne differansen mellom de ulike modellenes OFV. Dersom forskjellen i OFV er  $\geq 3,84$ , er modellen med den laveste OFV signifikant bedre ( $p < 0,05$ , 1df). Modellen med lavest OFV trenger ikke være den beste modellen. I tillegg til å bedømme OFV, kan ulike modeller sammenlignes ved å evaluere blant annet "goodness of fit" (GOF)-plots, residual og interindividuell variasjon og om parameterestimatene har en fysiologisk egnethet [15, 16].

## 1.3 Takrolimus

### 1.3.1 Innledning

Takrolimus er et potent immunsuppressivt legemiddel med et smalt terapeutisk vindu og høy intra- og interindividuell variasjon, og benyttes blant annet profylaktisk mot avstøting av transplantat etter transplantasjon. Etter transplantasjon benyttes takrolimus ofte i kombinasjon med andre immundempende legemidler. Takrolimus virker ved å hemme kalsineurin i T-lymfocytter. Dette fører til at fremgangen av immunresponsen som medieres av T-lymfocytter og B-lymfocytter hemmes, og hemmer transkripsjon av flere cytokiner, spesielt interleukin-2 (IL-2) [18-21].

### 1.3.2 Absorpsjon, distribusjon og eliminasjon

Biotilgjengeligheten til takrolimus er gjennomsnittlig 20-25 %, men varierer fra 5 % til 93 % i litteraturen. Den maksimale blodkonsentrasjonen oppnås 1-3 timer etter oralt doseinntak, og inntak av mat er en av faktorene som kan påvirke absorpsjonen [18, 19, 21, 22].

Takrolimus bindes i stor grad ( $\approx 99$  %) til plasmaproteiner, hovedsakelig albumin og  $\alpha_1$ -surt glykorpotein. I blod bindes takrolimus sterkt til erytrocytter, men vevsdistribusjonen er høy [19]. Utskilling av takrolimus og metabolittene av takrolimus skjer i størst grad i fæces via galle, men også noe renalt [22]. Alle metabolittene er mindre aktive enn takrolimus, men flere studier må gjøres på metabolittenes effekt og toksisitet [20].

### 1.3.3 Metabolisme

Takrolimus er substrat for både P-glykoprotein (P-gp) og cytokrom P-450 (CYP) 3A, og metaboliseres presystemisk av CYP3A4 og CYP3A5 i tarmveggen. I tillegg vil P-gp pumpe ut takrolimus, som igjen kan absorberes og utsettes for metabolisme. Denne gjentatte muligheten for metabolisme av CYP3A4 og CYP3A5 er en av årsakene til den lave biotilgjengeligheten av takrolimus. CYP3A4 og CYP3A5 i leveren metaboliserer også systemisk sirkulerende takrolimus i stor grad. Mindre enn 1 % av takrolimus skilles ut uendret i fæces eller urin [18, 21, 22].

### 1.3.4 Polymorfisme

Det er store interindividuelle forskjeller i de farmakokinetiske parametrene til takrolimus. En av faktorene som kan bidra til dette er polymorfisme i genene som koder for CYP3A og P-gp (*ABCB1*). *CYP3A5*-genotype er vist å påvirke farmakokinetikken til takrolimus i flere studier. Polymorfisme på intron 3 er mest undersøkt, der bærere som har minst ett *CYP3A5\*1*-allel (6986A) har funksjonelle CYP3A5, mens pasienter som er homozygote for *CYP3A5\*3*-allelet (6986G) ikke har CYP3A5 aktivitet [23]. Det er kun et begrenset antall individer som uttrykker CYP3A5. *CYP3A5\*1*-allelet uttrykkes i  $\approx 45\text{--}73\%$  av afroamerikanere, i  $\approx 15\text{--}35\%$  av asiater, i  $\approx 25\%$  av meksikanere, og i  $\approx 5\text{--}15\%$  av kaukasoide [20, 24]. I individene som uttrykker CYP3A5 er det holdepunkter for at CYP3A5 kan være viktigere for den totale metabolismen av takrolimus enn CYP3A4 [20]. Disse pasientene får en lavere biotilgjengelighet og høyere clearance, og trenger dermed en høyere dose av takrolimus enn de som ikke uttrykker CYP3A5. Ingen store forskjeller er vist mellom pasienter med kun ett *CYP3A5\*1*-allel og pasienter som er *CYP3A5\*1* homozygote, men det er et behov for flere studier. Selv om det er vist at *CYP3A5*-polymorfisme kan forklare noe av de interindividuelle forskjellene til takrolimus, gir ikke tilstedeværelsen av minst ett *CYP3A5\*1*-allel all informasjon om metabolismeaktivitet. Dette påvirkes også av en rekke andre faktorer, blant annet miljøpåvirkninger, stabilitet av CYP3A5-proteinet og uttrykk av mRNA [24]. Det er fortsatt usikkerhet rundt graden av effekt polymorfisme i *ABCB1* og genet som koder for CYP3A4 har på farmakokinetikken til takrolimus, og flere studier må gjennomføres [20].

### 1.3.5 Interaksjoner

Takrolimus blir påvirket av legemidler som hemmer eller induserer CYP3A4, CYP3A5 eller P-gp. Disse interaksjonene påvirker i størst grad biotilgjengeligheten, og kun i mindre grad clearance [22]. Kortikosteroider benyttes ofte sammen med takrolimus, og kan redusere blodkonsentrasjonen av takrolimus ved induksjon av CYP3A-enzymet. Andre faktorer som kan ha en effekt på farmakokinetikken til takrolimus er hvilket organ som er transplantert, leverfunksjon, annen sykdom, tid etter transplantasjon, pasientens alder og etnisitet, hematokrit, plasmaalbumin og når på døgnet takrolimus inntas [20, 22].

### 1.3.6 Bivirkninger

Takrolimus har et smalt terapeutisk vindu og en dårlig korrelasjon mellom dose og blodkonsentrasjon [25]. Underbehandling kan føre til avstøting av det transplanterte organet, mens overbehandling kan føre til bivirkninger som [18, 19]:

- Nyretoksisitet (i opptil 52 % av pasientene)
- Økt risiko for infeksjoner (opptil 45 %)
- Hypertensjon (38 % til 89 %)
- Nevrotoksiske effekter som tremor (15 % - 56 %), hodepine (37 % - 64 %) og insomni (32 % - 64 %)
- Diabetes (24 %)

Bivirkninger oppstår hyppigst de første månedene etter transplantasjon. Dette kan ha en sammenheng med at dosen av takrolimus vanligvis er høyere rett etter transplantasjon, og deretter reduseres [22].

### 1.3.7 Terapimonitorering (TDM)

Doseringen av takrolimus baseres på en klinisk vurdering av pasientens toleranse og avstøtningsreaksjon. På grunn av det smale terapeutiske området, de store intra- og interindividuelle forskjellene og den dårlige korrelasjonen mellom dose og effekt, benyttes også monitorering av blodkonsentrasjoner av takrolimus. I klinisk praksis er det vanlig å benytte predose ( $C_0$ , "trough") konsentrasjoner for monitorering og dosejustering. Selv om pasientens blodkonsentrasjoner ligger innenfor det anbefalte intervallet, er det ikke en garanti

mot over- eller underbehandling for alle pasienter, da ulike pasienter kan respondere ulikt på like blodkonsentrasjoner [20, 21].

### 1.3.8 Formuleringer

To orale formuleringer av takrolimus markedsført i Norge. Prograf<sup>®</sup> er formuleringen som har vært på markedet lengst, og er harde kapsler som tradisjonelt administreres to ganger daglig [21]. Advagraf<sup>®</sup> kom på det norske markedet i 2009, og er harde depotkapsler som kun administreres én gang daglig. I denne oppgaven er det Prograf<sup>®</sup> som analyseres. Når takrolimus omtales videre i oppgaven, er det formuleringen Prograf<sup>®</sup> om ikke annet er spesifisert [26].

### 1.3.9 Farmakokinetiske populasjonsmodeller for takrolimus

Det er flere publiserte populasjonsmodeller for takrolimus i nyretransplanterte pasienter [25, 27-34]. Det er imidlertid variasjoner blant disse modellene, både med hensyn til pasientmateriale, den resulterende strukturelle modellen, parameterestimer, hvilke kovariater som er inkludert, og hvilke valideringsmetoder som er benyttet. Et flertall av studiene har beregnet de tilsynelatende parameterverdiene ( $CL/F$ ,  $V/F$ ) eller benyttet verdier for biotilgjengelighet fra litteraturen, da de ikke har kunnet beregne den individuelle orale biotilgjengeligheten for takrolimus. Enkelte av studiene har benyttet verdier for absorpsjonshastighetskonstanten ( $k_a$ ) fra litteraturen, da de kun har hatt tilgang på  $C_0$ -konsentrasjoner. Både 1- og 2-kompartimentmodeller med og uten forsinkelse i absorpsjonsfasen i form av lag-tid eller Erlang-distribusjon har blitt publisert. Ulike interne valideringsmetoder har blitt benyttet, mens ekstern validering kun har blitt benyttet for et fåtall av modellene [11, 32].

## 1.4 Mål for oppgaven

Målet for denne oppgaven er å lage en farmakokinetisk populasjonsmodell for takrolimus (Prograf<sup>®</sup>) i nyretransplanterte pasienter ved å benytte NONMEM<sup>®</sup>. De spesifikke målene er:

- Det skal utvikles en populasjonsmodell med kompartmentmodell, absorpsjonsprofil og feilmodeller som gir en god beskrivelse av farmakokinetikken til takrolimus i nyretransplanterte pasienter.
- Ulike kovariater skal analyseres, og de signifikante kovariatene skal inkluderes i modellen.
- Modellen skal deretter valideres.

## 2. Materialer og metoder

### 2.1 Pasienter

Blodkonsentrasjoner fra 34 nyretransplanterte pasienter inkludert i ulike kliniske studier gjennomført ved Oslo universitetssykehus HF, Rikshospitalet, ble benyttet i denne oppgaven. Det ble utført 12-timersprofiler for 19 av pasientene. For 30 av pasientene var konsentrasjonsmålinger fra flere dager tilgjengelige, hvorav 14 av disse pasientene fikk utført en ny 12-timesprofil. Totalt ble 576 takrolimuskonsentrasjoner benyttet i analysen. Detaljer om de ulike studiene er gitt under. Pasientkarakteristika er oppsummert i tabell 1, og en detaljert oversikt over pasientene presenteres i appendiks 6.1.

#### 2.1.1 Cinacalcet-studien

Falck et al. [35] undersøkte cinacalcets effekter på farmakokinetikken til takrolimus, ciklosporin og mykofenolat i stabile nyretransplanterte pasienter. De seks pasientene som ble behandlet med takrolimus og mykofenolat ble benyttet i denne oppgaven. Dag 0 og 7 ble en 12-timers farmakokinetisk profil av takrolimus og mykofenolat gjennomført, og dagene 1-7 fikk pasientene 30 mg cinacalcet en gang daglig. Blodprøver ble tatt rett før ( $t=0$ ) og 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 8, 10 og 12 timer etter doseinntak av takrolimus. Pasientene fastet i minimum ti timer før de farmakokinetiske undersøkelsene. En LC-MS/MS-metode ble benyttet for å analysere blodprøvene. Takrolimuskonsentrasjoner fra både dag 0 og dag 7 er benyttet i denne oppgaven. Cinacalcet hadde en moderat, men signifikant effekt på farmakokinetikken til takrolimus, men denne effekten anses ikke for å være klinisk relevant og vil ikke bli videre undersøkt i denne studien.

#### 2.1.2 Rimonabant-studien

Amundsen et al. [36] undersøkte rimonabants effekter på farmakokinetikken til takrolimus og ciklosporin i stabile nyretransplanterte pasienter. De åtte pasientene som ble behandlet med takrolimus ble benyttet i denne oppgaven. En 12-timers farmakokinetisk profil av takrolimus ble gjennomført dag 0 og 56. Dagene 1-56 ble pasientene behandlet med 20 mg

rimonabant hver morgen. Blodprøver ble tatt rett før ( $t=0$ ) og 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 10 og 12 timer etter doseinntak av takrolimus. Pasientene fastet i minimum ti timer før de farmakokinetiske undersøkelsene. En LC-MS/MS-metode ble benyttet for å analysere blodprøvene. Rimonabant hadde ingen signifikante effekter på farmakokinetikken til takrolimus. Takrolimuskonsentrasjoner fra både før og etter behandling med rimonabant er benyttet i denne oppgaven.

### 2.1.3 Advagraf-studien

Midtvedt et al. [37] undersøkte forskjeller i formuleringene Prograf® og Advagraf® sine effekter på insulinsekresjon og insulinsensitivitet i nyretransplanterte pasienter uten diabetes. 20 stabile pasienter ble inkludert i studien. Farmakokinetiske profiler ble gjennomført før og etter bytte fra Prograf til Advagraf. Blodprøver ble tatt rett før ( $t=0$ ) og 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3 og 4 timer etter doseinntak av takrolimus av alle pasientene. Blodprøver på ett eller flere senere tidspunkt ble tatt av de fleste pasientene, men ikke alle. Disse ble tatt 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 12,5, 23 eller 24 timer etter doseinntak, hvorav de tre siste prøvene ble tatt etter administrasjon av kveldsdosen ( $t=12$ ). Pasientene fastet i minimum ti timer før de farmakokinetiske undersøkelsene. Takrolimuskonsentrasjoner fra pasientene når de ble behandlet med Prograf er benyttet i denne oppgaven. Immunoassay ble benyttet for å analysere blodprøvene. LC-MS/MS måler i gjennomsnitt 16,7 % lavere verdier enn immunoassay, og verdiene av konsentrasjonene målt med immunoassay ble derfor justert med følgende ligning:

$$y = 0,8028x + 0,186 \text{ Ligning 9}$$

der  $x$  er konsentrasjonsmålingen med immunoassay ( $\mu\text{g/L}$ ), og  $y$  er den justerte verdien ( $\mu\text{g/L}$ ).

**Tabell 1:** Demografiske data for pasientene benyttet i modellutviklingen

Pasientkarakteristika		Antall	Gjennomsnitt	Median	SD	Intervall
Antall		34				
Kjønn	Mann	25				
	Kvinne	9				
Alder (år)			48,3	47,0	13,7	26-78
Vekt (kg)			84,4	84,0	18,4	51-130,6
Tid etter transplantasjon	Dager		1897	1723,5	1635	25-5697
	År		5,2	4,7	4,5	0,07-15,6
Takrolimusdose (mg)	Morgen		2,8	2,0	1,5	1-7
	Kveld		2,8	2,0	1,6	0,5-7
Prednisolon (mg/dag)			7,2	5,0	5,8	0-25
B-Hematokrit (%)			38,7	39,0	5,9	26-58
P-Albumin (g/L)			42,2	42,0	3,0	36-49
P-ASAT (U/L)			23,0	22,0	6,9	12-50
CYP3A5-genotype	*1/*1	0				
	*1/*3	3				
	*3/*3	31				

## 2.2 Modellbygging

De populasjonskinetiske analysene ble utført ved å benytte NONMEM<sup>®</sup> (versjon VI level 1.0). De grafiske fremstillingene og de statistiske utregningene ble laget i Microsoft<sup>®</sup> Office Excel 2003 og Minitab<sup>®</sup> (versjon 15.1). I tillegg ble enkelte grafer fremstilt i programmet R for NONMEM<sup>®</sup> [38].

Alle pasientdataene ble sammenstilt i en inputfil. Utdrag fra inputfilen presenteres i appendiks 6.2. De tilgjengelige dataene ble grundig gjennomgått, og dataene ble dobbeltkontrollert med CRF eller pasientjournal der dette var mulig.

Ulike kontrollfiler med ulike farmakokinetiske modeller ble testet for å finne den basismodellen som passet best til dataene (tabell 2). 1, 2-og 3-kompartimentmodeller med og uten lag-tid i absorpsjonsfasen ble testet. Disse modellene ble kun testet med 1. ordens kinetikk [25, 27-30, 32, 34]. Interindividuell variasjon ble uttrykt med eksponentielle modeller:

$$CL = TVCL * EXP(ETA(1)) \text{ Ligning 10}$$

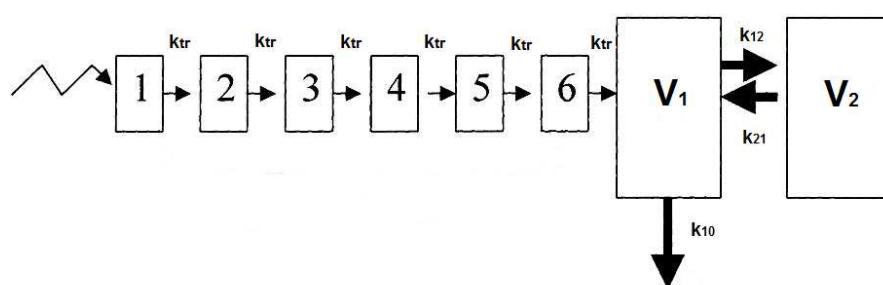
Residual variasjon ble testet med en additiv (ligning 11) og en kombinert proporsjonell og additiv modell (ligning 12):



$$Y = F + ERR(1) \text{ Ligning 11}$$

$$Y = F + F * ERR(1) + ERR(2) \text{ Ligning 12}$$

2-kompartimentmodeller med Erlang-distribusjon i absorpsjonsfasen ble også testet. Erlang-distribusjon kan benyttes for å beskrive lag-tid, og beskriver en lineær rekke av  $n$  identiske kompartimenter med identiske overføringshastighetskonstanter ( $k_{tr}$ ) plassert oppstrøms for det sentrale kompartimentet (figur 1). Disse kompartimentene er kun et matematisk verktøy for å skape ønskede overføringstider, og antall Erlang-kompartimenter har ingen annen fysiologisk betydning [39-41].



**Figur 1:** 2-kompartimentmodell med Erlang-distribusjon i absorpsjonsfasen. Kompartimentene har identiske overføringshastighetskonstanter ( $k_{tr}$ ). Modifisert modell fra Rousseau et al. [40].

2-kompartimentmodeller med Erlang-distribusjon i absorpsjonsfasen ble testet med 1, 2, 3 og 4 Erlang-kompartimenter.

**Tabell 2:** Ulike basismodeller testet

Modell	Subrutine	Residual variasjon
1-kompartiment uten lag-tid	ADVAN 2	Proporsjonell og additiv
1-kompartiment med lag-tid	ADVAN 2	Proporsjonell og additiv
2-kompartiment uten lag-tid	ADVAN 4	Proporsjonell og additiv
2-kompartiment med lag-tid	ADVAN 4	Proporsjonell og additiv
2-kompartiment med lag-tid	ADVAN 4	Additiv
2-kompartiment med Erlang-distribusjon*	ADVAN 5 SS5	Proporsjonell og additiv
3-kompartiment uten lag-tid	ADVAN 12	Proporsjonell og additiv
3-kompartiment med lag-tid	ADVAN 12	Proporsjonell og additiv
*testet med 1, 2, 3 og 4 Erlang-kompartimenter		

Metoden first-order conditional estimation (FOCE; method=1) ble benyttet gjennom hele modelleringsprosessen. Parametrene i modellene ble uttrykt med clearance i liter/time (CL),

sentralt distribusjonsvolum i liter ( $V_1$ ), interkompartimentell clearance i liter/time ( $Q$ ), perifert distribusjonsvolum i liter ( $V_2$ ), interkompartimentell clearance 2 i liter/time ( $Q_2$ ), perifert distribusjonsvolum 2 i liter ( $V_3$ ), absorpsjonshastighetskonstanten i timer<sup>-1</sup> ( $k_a$ ), overføringshastighetskonstanten i timer<sup>-1</sup> ( $k_{tr}$ ) og lag-tid i timer (ALAG). Da den individuelle orale biotilgjengeligheten ( $F$ ) var ukjent, ble verdiene for CL,  $V$  og  $Q$  oppgitt som de tilsynelatende parameterverdiene CL/ $F$ ,  $V/F$  og  $Q/F$  [29].

De ulike modellene ble vurdert på bakgrunn av flere faktorer:

- endring i OFV
- stabiliteten av thetaestimatene
- thetaestimatenes fysiologiske egnethet
- residual variasjon
- grafiske fremstillinger (goodness-of-fit (GOF) plots)

En reduksjon i OFV  $\geq 3,84$  er en statistisk signifikant forbedring av modellen ( $p < 0,05$ , 1 df).

## 2.3 Kovariater

Basert på kjente eller teoretisk sannsynlige sammenhenger med farmakokinetikken til takrolimus, samt resultatene fra tidligere populasjonsstudier på takrolimus til nyretransplanterte pasienter, ble følgende kovariater undersøkt: Alder (AGE), kroppsvekt (WT), tid etter transplantasjon (TXT), døgndose prednisolon (STER), *CYP3A5*-genotype (CYP), hematokrit (HCT), albumin (ALB) og ASAT. Hver enkelt kovariat ble testet på parametrene CL/ $F$ ,  $V_1/F$ ,  $Q/F$ ,  $V_2/F$ ,  $k_a$  og ALAG.

Kovariatanalysen ble gjennomført i en klassisk trinnvis inklusjons/eksklusjonsprosedyre ("forwards inclusion"/ "backwards deletion") [17, 42-44]. I det første trinnet ble hver enkelt kovariat lagt inn i modellen uten kovariater. Dersom kovariaten ga en reduksjon av OFV  $\geq 3,84$ , ble det ansett som en statistisk signifikant forbedring av modellen ( $p < 0,05$ , 1 df), og kovariaten gikk videre til neste trinn i analysen. I trinn 2 ble alle de signifikante kovariatene fra trinn 1 inkludert i modellen. For å bekrefte relevansen av kovariatene ble deretter én og én kovariat ekskludert fra den fulle modellen uavhengig av hverandre. Dersom eksklusjonen økte OFV  $\geq 6,63$  ble kovariaten ansett som signifikant ( $p < 0,01$ , 1 df). Disse kovariatene ble

beholdt videre i analysen. Prosessen ble deretter gjentatt med en ny eksklusjonsrunde for samtlige av kovariatene som ga en signifikant endring av OFV i trinn 2. Dette ble gjentatt til alle kovariatene ga en signifikant endring av OFV ( $p < 0,01$ , 1 df) ved eksklusjon fra modellen.

Også GOF-plots og effekt på residual og interindividuell variasjon ble evaluert i kovariatanalysen. En forverring i de grafiske fremstillingene eller av residual og interindividuell variasjon kan gi signaler om at en kovariat ikke er egnet selv om den gir en signifikant reduksjon av OFV. I tilfellene der en kovariat i inklusjonstrinnet ga en signifikant reduksjon av OFV på samme parameter med flere ulike ligninger, ble den ligningen som ga den største reduksjonen av OFV beholdt videre til neste trinn.

### 2.3.1 Kontinuerlige kovariater

Alder, kroppsvekt, tid etter transplantasjon, døgndose prednisolon, hematokrit, albumin og ASAT ble undersøkt som kontinuerlige kovariater. Følgende ligninger ble undersøkt:

Lineære modeller:

$$TV_{pop} = \theta_p + \theta_1 * \text{kovariatverdi} \quad \text{Ligning 13}$$

$$TV_{pop} = \theta_p - \theta_1 * \text{kovariatverdi} \quad \text{Ligning 14}$$

$$TV_{pop} = \theta_p + \theta_1 / \text{kovariatverdi} \quad \text{Ligning 15}$$

$$TV_{pop} = \theta_p - \theta_1 / \text{kovariatverdi} \quad \text{Ligning 16}$$

Proporsjonelle modeller:

$$TV_{pop} = \theta_p * \text{kovariatverdi} \quad \text{Ligning 17}$$

$$TV_{pop} = \theta_p / \text{kovariatverdi} \quad \text{Ligning 18}$$

$$TV_{pop} = \theta_p * \text{kovariatverdi} * e^{\theta_1} \quad \text{Ligning 19}$$

$$TV_{pop} = \theta_p / \text{kovariatverdi} * e^{\theta_1} \quad \text{Ligning 20}$$

der  $TV_{pop}$  er den typiske verdien i populasjonen,  $\theta_p$  er individets parameterestimat og  $\theta_1$  er bidraget fra kovariaten [15, 16, 42].

De kontinuerlige kovariatene ble sentrert rundt kovariatenes medianverdi (tabell 1), her illustrert med kroppsvektvekt (WT) [42, 44]:

$$TV_{pop} = \theta_p + \theta_1 * (WT/84) \text{ Ligning 21}$$

I tillegg til å bli sentrert rundt medianverdien, ble kovariaten kroppsvekt også undersøkt slik:

$$TV_{pop} = \theta_p + \theta_1 * (WT/84) * e^{0,75} \text{ Ligning 22}$$

### 2.3.2 Binomiske kovariater

*CYP3A5*-genotype ble undersøkt som en binomisk kovariat (\*1/\*3 eller \*3/\*3). Binomiske kovariater sentreres vanligvis ikke rundt typiske populasjonsverdier, men oppgis heller med hvis/hvis ikke-fremstillinger [44]:

$$\begin{aligned} & \text{IF (CYP.EQ.1) THEN} \\ & \quad TV_{pop} = \theta_1 \\ & \text{ELSE} \\ & \quad TV_{pop} = \theta_2 \\ & \text{ENDIF} \end{aligned} \text{ Ligning 23}$$

der pasienter med *CYP3A5*\*1/\*3 (*CYP* = 0) får  $TV_{pop} = \theta(2)$ . Pasienter med *CYP 3A5*\*3/\*3 (*CYP* = 1) får  $TV_{pop} = \theta(1)$ . Den samme ligningen kan også settes opp på en enkelt linje, som illustrert med ligning 24. Ligningene på en enkelt linje ble valgt i analysen av *CYP3A5*-genotype som binomisk kovariat. Følgende ligninger ble undersøkt:

$$TV_{pop} = \theta_1 * CYP + \theta_2 * (1 - CYP) \text{ Ligning 24}$$

$$TV_{pop} = \theta_1 * CYP + (\theta_1 + \theta_2) * (1 - CYP) \text{ Ligning 25}$$

$$TV_{pop} = \theta_1 * CYP + (\theta_1 - \theta_2) * (1 - CYP) \text{ Ligning 26}$$

$$TV_{pop} = \theta_1 * CYP + (\theta_1 * \theta_2) * (1 - CYP) \text{ Ligning 27}$$

$$TV_{pop} = \theta_1 * CYP + (\theta_1 / \theta_2) * (1 - CYP) \text{ Ligning 28}$$

$$TV_{pop} = \theta_1 * CYP + (\theta_1 * e^{\theta_2}) * (1 - CYP) \text{ Ligning 29}$$

Døgndose prednisolon ble også undersøkt som en binomisk kovariat, da prednisolondose har blitt testet både som kontinuerlig og binomisk kovariat i tidligere studier [25, 27, 33]. Det ble undersøkt om døgndose prednisolon  $\geq 15$  mg hadde en annen effekt på farmakokinetikken til takrolimus enn lavere prednisolondoser. Denne kovariaten ble analysert med de samme ligningene som for *CYP3A5*-genotype, men ligningene ble oppgitt med hvis/hvis ikke-fremstillinger, her illustrert med ligningene utformet på samme måte som ligning 24 og 25:

*IF (STER.LE.14) THEN*

$$TV_{pop} = \theta_1$$

*ELSE*

**Ligning 30**

$$TV_{pop} = \theta_2$$

*ENDIF*

*IF (STER.LE.14) THEN*

$$TV_{pop} = \theta_1$$

*ELSE*

**Ligning 31**

$$TV_{pop} = \theta_1 + \theta_2$$

*ENDIF*

der pasienter med døgndose prednisolon under 14 får  $TV_{pop} = \theta(1)$ , mens pasientene som ikke har prednisolondose under 14 får  $TV_{pop} = \theta(2)$  eller  $TV_{pop} = \theta(1) + \theta(2)$ .

## 2.4 Validering

### 2.4.1 Jackknife

Metoden Jackknife ble benyttet for å estimere 95 % konfidensintervall til den endelige modellens parameterestimer [9, 45-47]. 34 nye datasett (inputfiler) ble laget. Hvert datasett besto av  $n-1$  pasienter, der  $n$  = totalt antall pasienter (34), og hver av pasientene ble ekskludert kun én gang. Datasettene ble analysert i NONMEM med den endelige farmakokinetiske modellen. Fra de resulterende 34 verdiene ble 95 % konfidensintervall beregnet for hver parameter. Standardfeil (SE) for parameterestimatene ble benyttet videre i

data-splittingen. Jackknife vil også kunne avdekke enkeltindivider med en stor påvirkning på de endelige parameterestimaterne.

## 2.4.2 Data-splitting

For å vurdere den endelige modellens robusthet, samt for å evaluere enkeltindividers bidrag på de endelige parameterestimaterne, ble data-splitting gjennomført [9, 42, 45]. Pasientene ble tilfeldig inndelt i ti grupper, der hver av gruppene besto av  $\approx 90$  % av pasientene. Hver pasient ble kun ekskludert fra det komplette datasettet én gang. Hvert av de ti datasettene ble analysert i NONMEM med den endelige farmakokinetiske modellen. Parameterestimaterne fra de ti undergruppekjøringene ble sammenlignet med parameterestimaterne til den endelige modellen og resultatene fra Jackknife. Den tilfeldige gruppeinndelingen ble utført ved å benytte Random Sequence Generator på internettsiden random.org (<http://www.random.org/sequences/>) [48]. Inndelingen presenteres i tabell 3.

**Tabell 3:** Pasienter ekskludert fra de ulike undergruppene i data-splittingen:

Gruppe	Ekskluderte pasienter			
1	320	315	317	316
2	103	309	310	318
3	101	216	104	105
4	308	219	304	206
5	203	301	313	
6	220	302	312	
7	106	319	303	
8	209	306	307	
9	305	210	314	
10	214	311	102	

OFV ble beregnet ved å analysere det komplette datasettet i NONMEM med ti ulike kontrollfiler, med theta fiksert til parameterestimaterne fra undergruppekjøringene. Deretter ble OFV sammenlignet med OFV til den endelige modellen. Dersom den absolutte endringen i OFV fra de ti ulike analysene ligger innenfor  $\pm 3,84$  fra den endelige modellens OFV, tilsvarer dette å ligge innenfor et 95 % konfidensintervall [45, 49].

For å undersøke modellens evne til å predikere blodkonsentrasjoner, ble de  $\approx 10$  % av pasientene som var ekskludert fra hver undergruppe returnert til datasettene. Estimer for theta, sigma og omega fra de ti undergruppekjøringene ble benyttet til å predikere blodkonsentrasjonene til de tidligere ekskluderte pasientene i hver undergruppe ved å oppgi POSTHOC under ESTIMATION, og å sette MAXEVAL til 0. De ekskluderte pasientene ble

returnert til datasettene uten noen blodkonsentrasjoner, med én konsentrasjon ( $t = 0$ ), med to konsentrasjoner ( $t = 0$  og  $t = 1$ ), med tre konsentrasjoner ( $t = 0$ ,  $t = 1$  og  $t = 3$ ) og med alle konsentrasjonene. Der data var hentet inn fra pasientene på ulike dager, ble blodkonsentrasjoner ( $t = 0$ , 1 og 3) kun oppgitt for den første dagen. Videre ble de individuelt predikerte konsentrasjonene (IPRED) sammenlignet med de observerte blodkonsentrasjonene ved å beregne ”mean prediction error” (ME), ”mean squared prediction error” (MSE), ”root mean squared prediction error” (RMSE) og ”standardized prediction error” (SPE):

$$ME = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (C_{pred} - C_{obs}) \quad \textbf{Ligning 32}$$

$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (C_{pred} - C_{obs})^2 \quad \textbf{Ligning 33}$$

$$RMSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sqrt{(C_{pred} - C_{obs})^2} \quad \textbf{Ligning 34}$$

$$SPE = \frac{C_{obs} - C_{pred}}{SD_{C_{pred}}} \quad \textbf{Ligning 35}$$

der  $C_{pred}$  er de individuelt predikerte blodkonsentrasjonene (IPRED),  $C_{obs}$  er de observerte blodkonsentrasjonene og  $SD_{C_{pred}}$  er standardavviket til de predikerte blodkonsentrasjonene. ME er et mål på bias, mens RMSE er et mål på presisjon. SPE er et annet mål på modellens evne til å predikere blodkonsentrasjoner. I en god modell vil gjennomsnittet av SPE ligge nærme 0, og 95 % konfidensintervallet bør inneholde 0. Standardavviket til SPE bør ligge nærme 1 [9, 45, 49-53].

### 2.4.3 Statistikk

I forbindelse med de statistiske analysene ble de ulike verdiene kontrollert for normalitet. Z-tester ble benyttet for beregning av konfidensintervall og i signifikanstester for verdier som var normalfordelte eller tilnærmet normalfordelte [46]. For verdier som ikke var normalfordelte, ble Wilcoxon signed rank tester benyttet [54].

### 3. Resultater

#### 3.1 Modellbygging

En 2-kompartimentmodell med lag-tid i absorpsjonsfasen og en kombinert proporsjonell og additiv residual variasjonsmodell ga en god beskrivelse av farmakokinetikken til takrolimus i pasientene. Den hadde lav OFV, gode GOF-plots, lav residual variasjon, og kort kjøretid. Parametrene i modellen ble uttrykt med clearance (CL/F), sentralt distribusjonsvolum ( $V_1/F$ ), interkompartimentell clearance (Q/F), perifert distribusjonsvolum ( $V_2/F$ ), absorpsjonshastighetskonstanten ( $k_a$ ) og lag-tid (ALAG). OFV og residual variasjon for de ulike modellene som ble testet er oppsummert i tabell 4. Enkelte av kontrollfilene er lagt ved i appendiks 6.3-6.6.

**Tabell 4:** Sammenligning av OFV og residual variasjon for de ulike basismodellene

Modell	OFV	Residual variasjon	
		Proporsjonell (%)	Additiv ( $\mu\text{g/L}$ )
1-kompartiment uten lag-tid	1629,77	20,1	0,616
1-kompartiment med lag-tid	1556,53	17,0	0,798
2-kompartiment uten lag-tid	1511,50	18,1	0,473
2-kompartiment med lag-tid	1371,43	13,2	0,722
2-kompartiment med lag-tid, kun additiv sigma	1495,26	-	2,68
2-kompartiment med Erlang-distribusjon, $n = 1$	1301,09	14,2	0,572
2-kompartiment med Erlang-distribusjon, $n = 2$	1271,03	13,4	0,562
2-kompartiment med Erlang-distribusjon, $n = 3$	1271,08	13,2	0,560
2-kompartiment med Erlang-distribusjon, $n = 4$	1278,06	13,3	0,553
3-kompartiment uten lag-tid	1457,38	18,4	0,436
3-kompartiment med lag-tid	1315,07	13,2	0,720
$n =$ antall Erlang-kompartmenter			

1- og 2-kompartimentmodellene med og uten lag-tid hadde korte kjøretider og var stabile for initielle thetaestimer. 2-kompartimentmodellen med ett Erlang-kompartiment hadde en kjøretid på under 30 minutter, men hadde en lavere stabilitet for initielle thetaestimer. Modellen med to, tre og fire Erlang-kompartmenter hadde kjøretider på mellom 30 og 50 minutter. De lange kjøretidene var årsaken til at ikke en Erlang-modell gikk videre i analysen. 3-kompartimentmodellene med og uten lag-tid hadde korte kjøretider, men var ikke



stabile for initielle thetaestimer. De ulike modellenes parameterestimer er oppsummert i tabell 5.

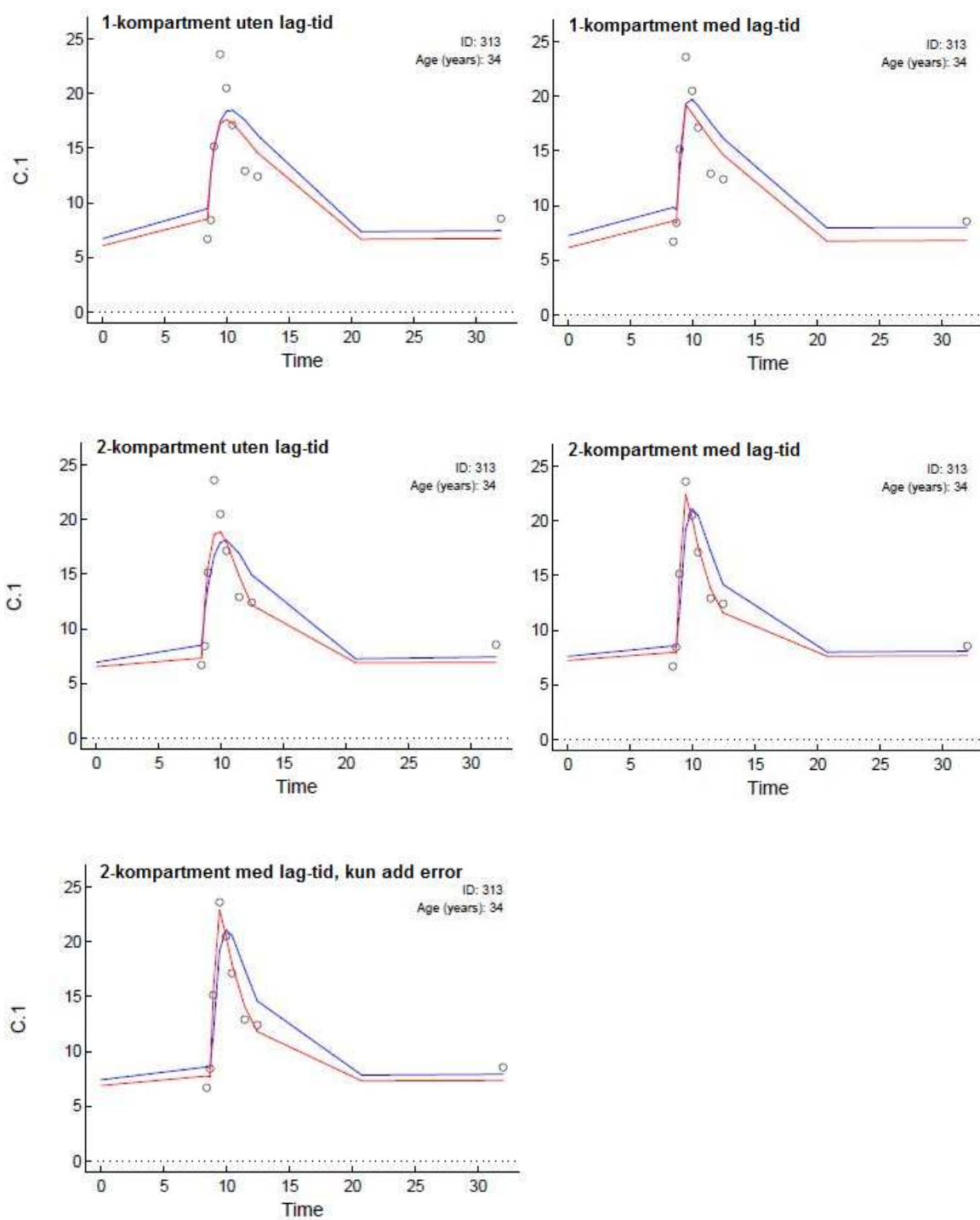
**Tabell 5:** Parameterestimaterne for de ulike basismodellene

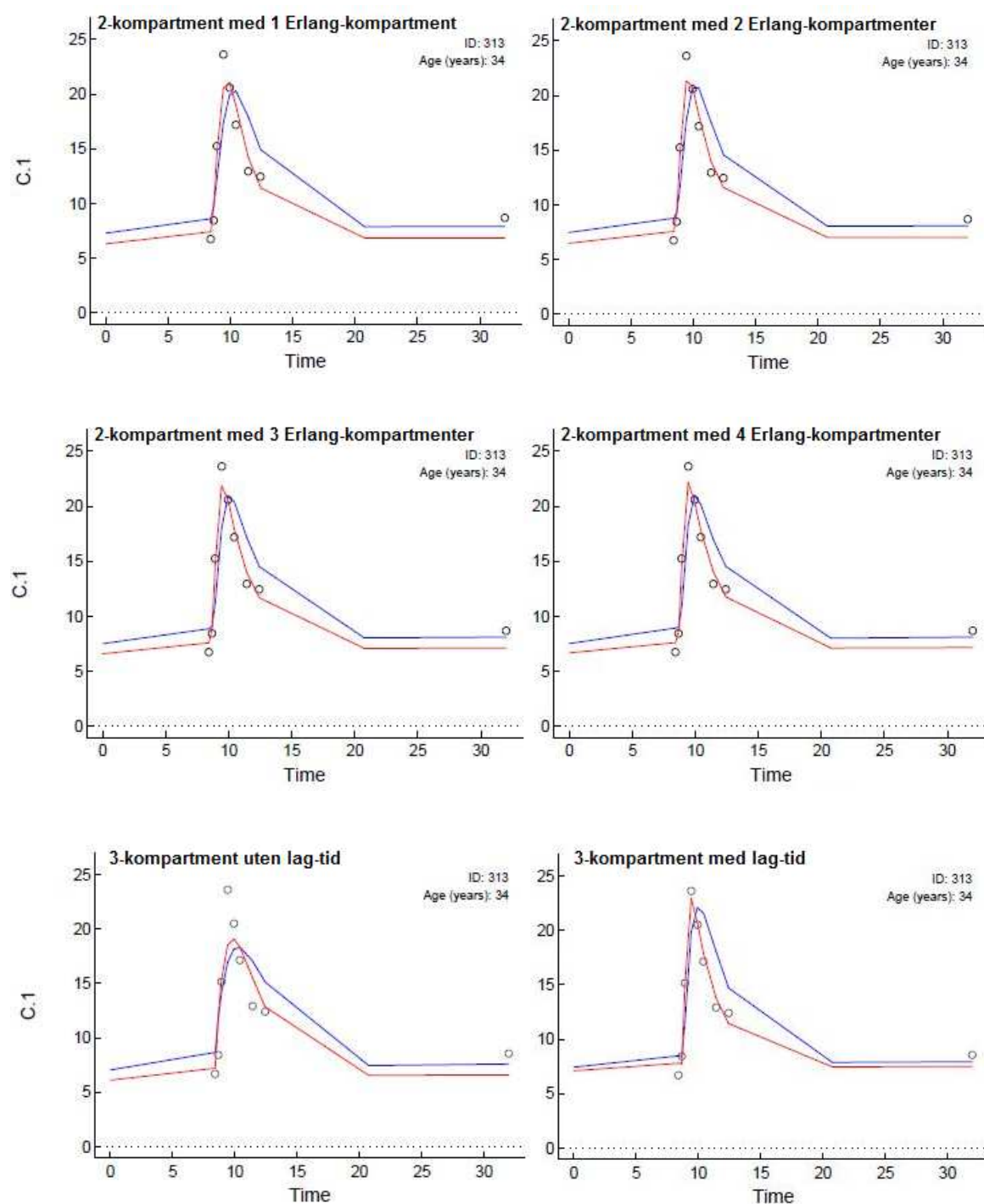
Modell	CL/F (L/t)	V <sub>1</sub> /F (L)	Q/F (L/t)	V <sub>2</sub> /F (L)	Q <sub>2</sub> /F (L/t)	V <sub>3</sub> /F (L)	k <sub>a</sub> (t <sup>-1</sup> )	ALAG (t)
1-kompartiment uten lag-tid	21,5	225	-	-	-	-	1,21	-
1-kompartiment med lag-tid	21,0	247	-	-	-	-	3,49	0,399
2-kompartiment uten lag-tid	22,0	113	31,2	596	-	-	0,552	-
2-kompartiment med lag-tid	21,5	54,9	46,5	675	-	-	0,565	0,386
2-kompartiment med lag-tid, kun additiv sigma	21,4	46,3	41,7	561	-	-	0,481	0,387
2-kompartiment med Erlang-distribusjon, $n = 1$	21,8	104	47,0	311	-	-	1,41*	-
2-kompartiment med Erlang-distribusjon, $n = 2$	21,6	136	44,4	319	-	-	2,68*	-
2-kompartiment med Erlang-distribusjon, $n = 3$	21,6	160	38,8	352	-	-	4,06*	-
2-kompartiment med Erlang-distribusjon, $n = 4$	21,5	173	35,3	377	-	-	5,42*	-
3-kompartiment uten lag-tid	21,8	124	6,51	96,2	25,0	340	0,615	-
3-kompartiment med lag-tid	21,2	56,7	9,47	106	32,3	430	0,609	0,386

\*k<sub>ir</sub> (t<sup>-1</sup>) (overføringshastighetskonstanten mellom Erlang-kompartimentene);  $n$  = antall Erlang-kompartimenter; CL/F = clearance; V<sub>1</sub>/F = sentralt distribusjonsvolum; Q/F = interkompartimentell clearance; V<sub>2</sub>/F = perifert distribusjonsvolum; Q<sub>2</sub>/F = interkompartimentell clearance 2; V<sub>3</sub>/F = perifert distribusjonsvolum 2; k<sub>a</sub> = absorpsjonshastighetskonstanten; ALAG = lag-tid

For 3-kompartimentmodellene endret thetaestimatene seg etter små justeringer av initielle estimer for theta, sigma eller omega, slik at det ble en stor variasjon i OFV og parameterestimer. Modellene ble testet med en rekke ulike potensielle initielle thetaestimer. Områder for initielle parameterestimer og de resulterende parameterverdiene, samt OFV og residual variasjon er oppsummert i appendiks 6.7.

Samtlige av modellene hadde problemer med prediksjon av enkelte høye blodkonsentrasjoner. I modellene uten lag-tid eller Erlang-kompartimenter fikk NONMEM enda større vansker med å predikere de høyeste blodkonsentrasjonene (figur 2).





**Figur 2:** Konsentrasjon/tid-kurver for pasient 313 for de ulike basismodellene. Sirklene er de observerte konsentrasjonene; De røde linjene (—) er de individuelt predikerte konsentrasjonene (IPRED); De blå linjene (—) er de populasjonspredikerte konsentrasjonene (PRED).

## 3.2 Kovariater

### 3.2.1 Inklusjonstrinnet

Enkelte av kovariatene ble ikke fullstendig analysert av NONMEM, men fikk en avbrutt kjøring grunnet negative parameterverdier. Disse kovariatene ble da ansett som uegnet. Alle kovariatene bortsett fra alder og albumin ga minst én signifikant endring av OFV i inklusjonstrinnet. Ingen av de signifikante kovariatene ga en øking av residual eller interindividuell variasjon, eller forverring GOF-plottene. Modellen uten kovariater hadde en OFV på 1371,43. En oppsummering av de signifikante kovariatene i inklusjonstrinnet presenteres i tabell 6.

**Tabell 6:** Signifikante kovariater fra inklusjonstrinnet i kovariatanalysen

Kovariat	Parameter	Ligning	OFV	$\Delta$ OFV	p
<b>Tid etter transplantasjon</b>	CL/F	$TVCL=\theta(1)-\theta(7)/(TXT/1723.5)$	1353,96	-17,47	<0,001
	ALAG	$TVALAG=\theta(6)+\theta(7)*(TXT/1723.5)$	1360,36	-11,07	<0,001
<b>Døgndose prednisolon</b>	CL/F	$TVCL=\theta(1)-\theta(7)*(STER/5)$	1359,86	-11,57	<0,001
	ALAG	IF (STER.LE.14) THEN TVALAG= $\theta(6)$ ELSE TVALAG= $\theta(6)/\theta(7)$ ENDIF	1358,51	-12,92	<0,001
<b>Hct</b>	$k_a$	$TVKA=\theta(5)-\theta(7)*(HCT/39)$	1367,36	-4,07	<0,05
<b>ASAT</b>	CL/F*	$TVCL=\theta(1)-\theta(7)*(ASAT/22)$	1343,88	-27,55	<0,001
	$V_1/F$	$TVV1=\theta(2)-\theta(7)/(ASAT/22)$	1363,79	-7,64	<0,01
<b>Vekt</b>	$V_1/F^*$	$TVV1=\theta(2)-\theta(7)/((WT/84)*EXP(0.75))$	1359,34	-12,09	<0,001
	$V_2/F^{**}$	$TVV2=\theta(4)-\theta(7)*((WT/84)*EXP(0.75))$	1363,72	-7,71	<0,01
	$k_a^*$	$TVKA=\theta(5)+\theta(7)/((WT/84)*EXP(0.75))$	1367,36	-4,07	<0,05
	ALAG*	$TVALAG=\theta(6)-\theta(7)/((WT/84)*EXP(0.75))$	1340,12	-31,31	<0,001
<b>CYP3A5</b>	CL/F**	$TVCL=\theta(1)*CYP+\theta(7)*(1-CYP)$	1356,41	-15,02	<0,001
	Q/F**	$TVQ=\theta(3)*CYP+\theta(7)*(1-CYP)$	1363,33	-8,1	<0,01
	$V_2/F^{**}$	$TVV2=\theta(4)*CYP+\theta(7)*(1-CYP)$	1366,64	-4,79	<0,05
*flere ligninger ga en signifikant reduksjon i OFV, den med størst reduksjon ble beholdt videre					
**flere ligninger ga den samme signifikante reduksjonen i OFV, den ene ble beholdt videre					

Flere ligninger ga en identisk reduksjon av OFV, samt like eller tilnærmet like estimater for theta, sigma og omega, for effekten av vekt på  $V_2/F$  og effekten av CYP3A5-genotype på parametrene CL/F, Q/F og  $V_2/F$ . For vekt på  $V_2/F$  ga ligningen  $TVV2=\theta(4)-\theta(7)*(WT/84)$  og den samme ligningen der vekt multipliseres med  $e^{0,75}$  identisk reduksjon av OFV. Ligningen der vekt multipliseres med  $e^{0,75}$  ble beholdt videre i modelleringsprosessen, da de andre signifikante ligningene for kovariaten vekt alle var utformet slik. For CYP3A5-genotype på CL/F, Q/F og  $V_2/F$ , ga ligningene utformet som ligning 24, 25, 27, 28 og 29 identisk

reduksjon av OFV for hver av parametrene. Ligningen utformet som ligning 24 ble beholdt videre i modelleringsprosessen.

### 3.2.2 Eksklusjonstrinnet

Eksklusjonstrinnet måtte gjennomføres tre ganger før alle kovariatene ga en signifikant endring av OFV ved eksklusjon fra modellen. Kovariatene vekt på lag-tid og *CYP3A5*-genotype på CL/F og Q/F ble gjenværende som signifikante i den endelige modellen. Modellen med alle de signifikante kovariatene fra inklusjonstrinnet hadde en OFV på 1308,03. Den fulle modellen i eksklusjonstrinn 2 hadde en OFV på 1312,96, og den fulle modellen i eksklusjonstrinn 3 hadde en OFV på 1317,69. Eksklusjonstrinnene er oppsummert i tabell 7.

**Tabell 7:** Signifikante kovariater fra eksklusjonstrinnene i kovariatanalysen

Kovariat	Parameter	OFV	Δ OFV	p
<i>Eksklusjonstrinn 1</i>				
<b>Hct</b>	$k_a$	1345,48	37,45	< 0,001
<b>Vekt</b>	ALAG	1319,32	11,29	< 0,001
<b>CYP3A5</b>	CL/F	1327,73	19,7	< 0,001
	Q/F	1336,94	28,91	< 0,001
<i>Eksklusjonstrinn 2</i>				
<b>Vekt</b>	ALAG	1344,22	31,26	< 0,001
<b>CYP3A5</b>	CL/F	1327,95	14,99	< 0,001
	Q/F	1347,77	34,81	< 0,001
<i>Eksklusjonstrinn 3</i>				
<b>Vekt</b>	ALAG	1348,24	30,55	< 0,001
<b>CYP3A5</b>	CL/F	1332,69	15	< 0,001
	Q/F	1325,19	7,5	< 0,01

Den endelige modellen var ikke stabil for initielle thetaestimer. Effekten av kovariaten vekt på lag-tid bidro til dette. Ligningen for denne kovariaten ble erstattet med den nest beste ligningen for effekten av vekt på lag-tid fra inklusjonstrinnet:  $TVALAG = \theta(6) * (WT/84)$ . Begge ligningene gir en økt lag-tid ved økende vekt. Eksklusjon av den gamle ligningen for effekten av vekt på lag-tid fra modellen økte OFV fra 1317,69 til 1348,24,  $\Delta$  OFV = 30,55. Inklusjon av den nye ligningen for effekten av vekt på lag-tid ga en reduksjon av OFV fra 1348,24 til 1323,64,  $\Delta$  OFV = -24,6. Denne modellen ble stabil.

### 3.3 Den endelige modellen

Den endelige modellen hadde følgende kovariater:

*CYP3A5*-genotype på CL/F:  $TVCL = \theta(1) * CYP + \theta(7) * (1 - CYP)$

*CYP3A5*-genotype på Q/F:  $TVQ = \theta(3) * CYP + \theta(8) * (1 - CYP)$

Vekt på ALAG:  $TVALAG = \theta(6) * (WT/84)$

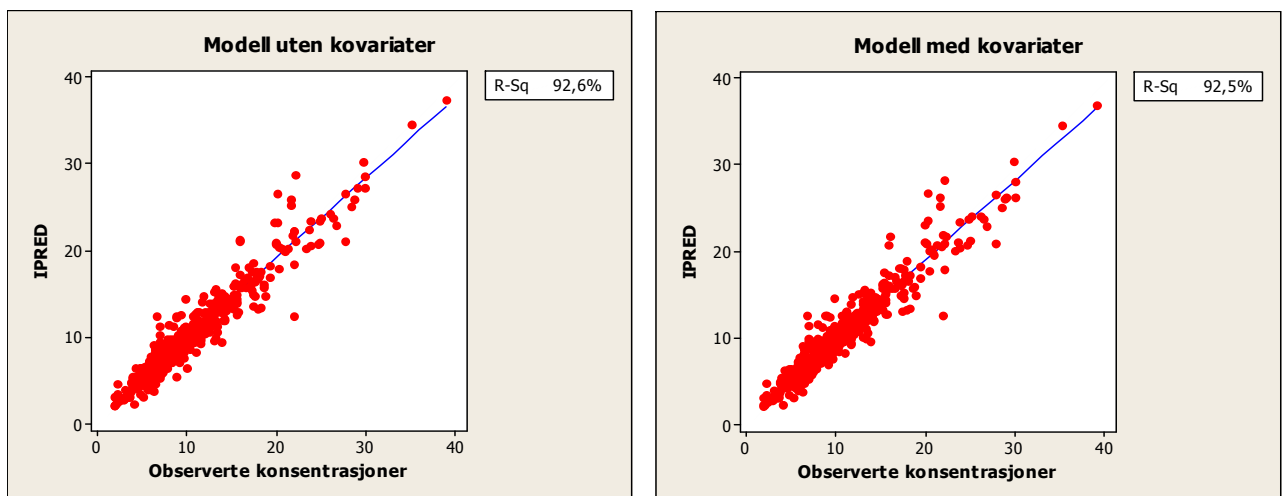
der pasientene med *CYP3A5*\*1/\*3 (*CYP* = 0) får  $CL_{CYP}/F = \theta(7)$  og  $Q_{CYP}/F = \theta(8)$ , mens pasientene med *CYP3A5*\*3/\*3 (*CYP* = 1) får  $CL/F = \theta(1)$  og  $Q/F = \theta(3)$ .

Kovariatene ga en reduksjon av OFV og den additive residuale variasjonen, mens den proporsjonelle residuale variasjonen var tilnærmet uendret sammenlignet med modellen uten kovariater. Den interindividuelle variasjonen ble redusert for de fleste parametrene, men økte for  $V_1/F$  og ALAG. Modellen med kovariater var mer stabil for initielle thetaestimer enn modellen uten kovariater, og kjøretiden var fortsatt lav. De to modellene med og uten kovariater sammenlignes i tabell 8.

**Tabell 8:** Sammenligning av OFV, parameterestimer, interindividuell variasjon og residual variasjon for modellene med og uten kovariater

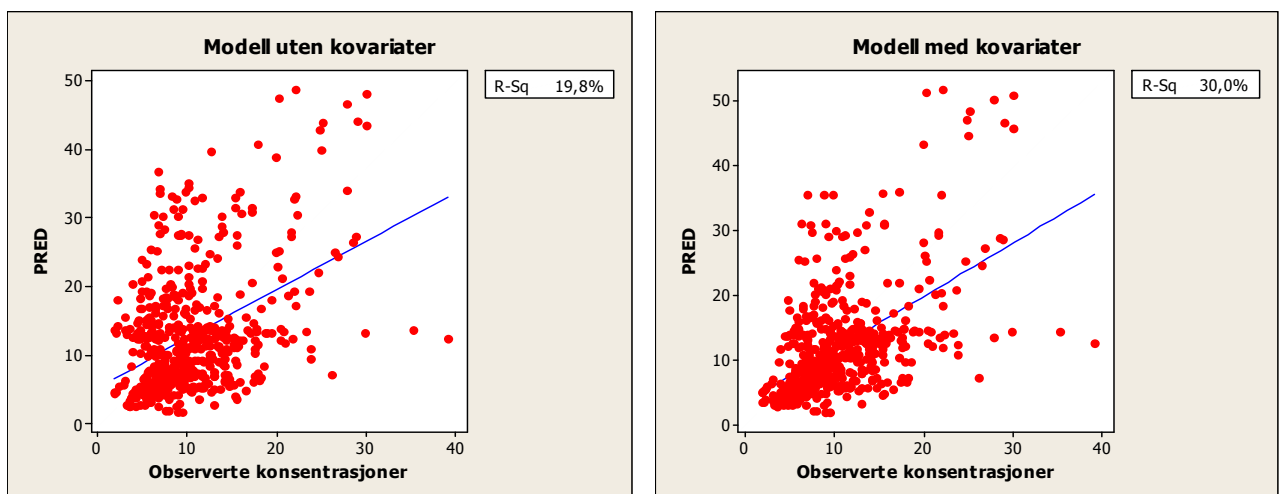
	2-kompartiment m/lag-tid uten kovariater	2-kompartiment m/lag-tid med kovariater
<b>OFV</b>	1371,43	1323,64
<i>Parameterestimer</i>		
<b>CL/F (L/t)</b>	21,5	19,4
<b><math>V_1/F</math> (L)</b>	54,9	64,1
<b>Q/F (L/t)</b>	46,5	40,6
<b><math>V_2/F</math> (L)</b>	675	650
<b><math>k_a</math> (t<sup>-1</sup>)</b>	0,565	0,585
<b>ALAG (t)</b>	0,386	0,374
<b><math>CL_{CYP}/F</math> (L/t)</b>	-	65,5
<b><math>Q_{CYP}/F</math> (L/t)</b>	-	116
<i>Interindividuell variasjon (%)</i>		
<b>CL/F</b>	58,0	46,0
<b><math>V_1/F</math></b>	125	131
<b>Q/F</b>	63,1	56,0
<b><math>V_2/F</math></b>	86,0	84,4
<b><math>k_a</math></b>	22,0	0,3
<b>ALAG</b>	0,1	11,7
<i>Residual variasjon</i>		
<b>Proporsjonell (%)</b>	13,2	13,4
<b>Additiv (µg/L)</b>	0,722	0,637
CL/F = clearance; $V_1/F$ = sentralt distribusjonsvolum; Q/F = interkompartimentell clearance; $V_2/F$ = perifert distribusjonsvolum; $k_a$ = absorpsjonshastighetskonstanten; ALAG = lag-tid; $CL_{CYP}/F$ = clearance for pasientene med <i>CYP3A5</i> *1/*3; $Q_{CYP}/F$ = interkompartimentell clearance for pasientene med <i>CYP3A5</i> *1/*3		

Inklusjon av kovariater i modellen ga ingen signifikante endringer i modellens evne til å estimere individuelt predikerte konsentrasjoner, og  $r^2$ -verdien var tilnærmet uendret (figur 3).



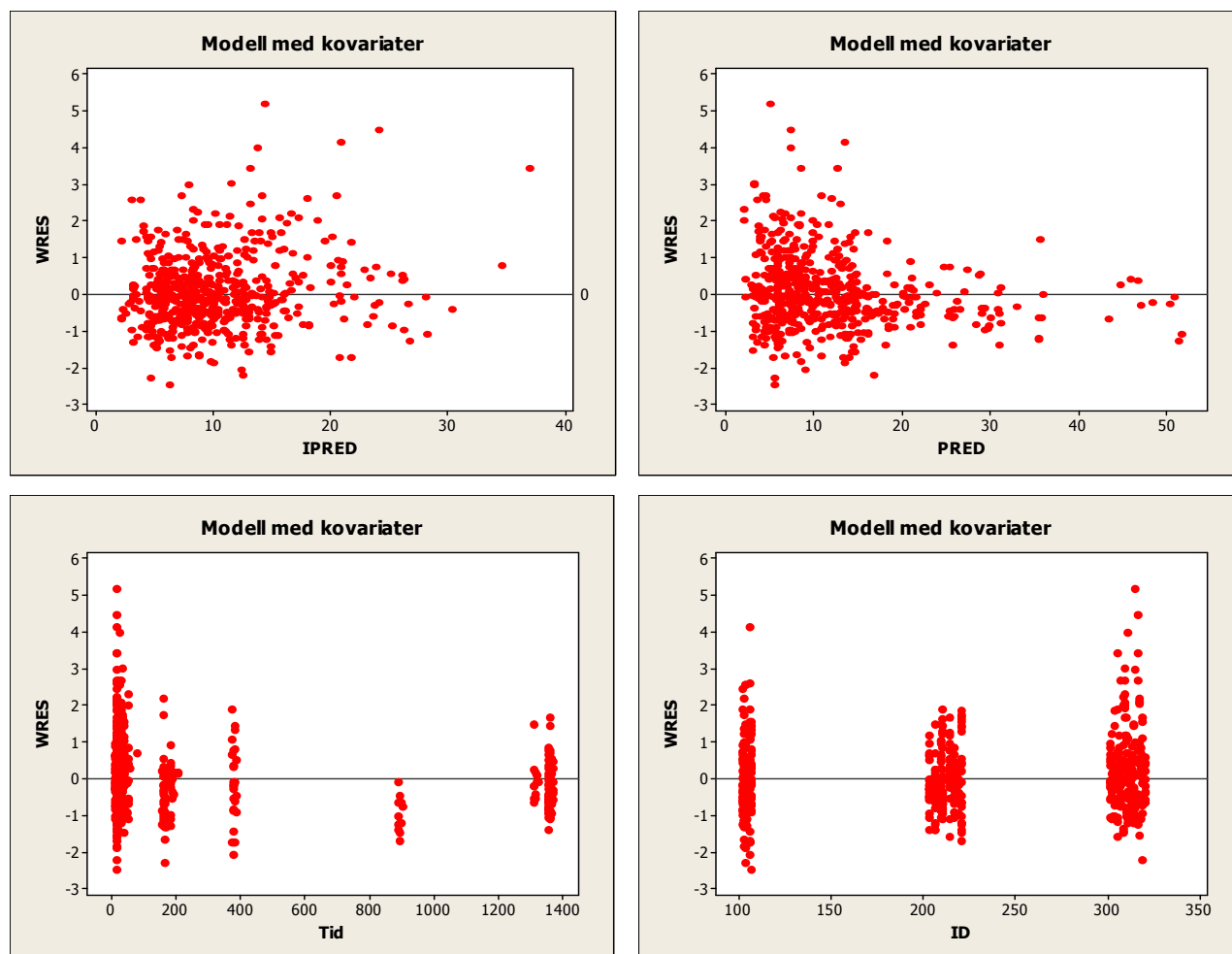
**Figur 3:** GOF-plots av individuelt predikerte observasjoner (IPRED) vs. observerte konsentrasjoner i modellene med og uten kovariater.

Modellen med kovariater ga en forbedring av modellens evne til å estimere populasjonspredikerte konsentrasjoner og økte  $r^2$ -verdien fra 19,8 % til 30,0 % (figur 4).



**Figur 4:** GOF-plots av populasjonspredikerte observasjoner (PRED) vs. observerte konsentrasjoner i modellene med og uten kovariater.

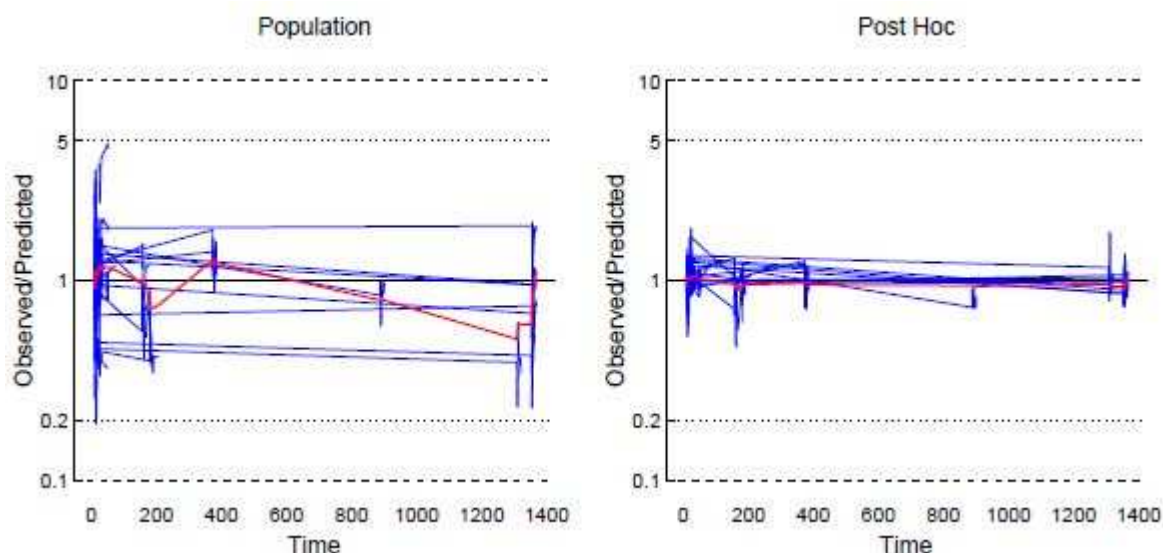
Residualplottene (figur 5) viser distribusjonen av "weighted residuals" (WRES) over variablene individuelt predikerte konsentrasjoner, populasjonspredikerte konsentrasjoner, prøvetakingstidspunkt og pasienter.



**Figur 5:** GOF-plots av "weighted residuals" (WRES) vs. individuelt predikerte konsentrasjoner (IPRED), populasjonsprediskerte konsentrasjoner (PRED), prøvetakingstidspunkt (tid) og pasienter (ID).

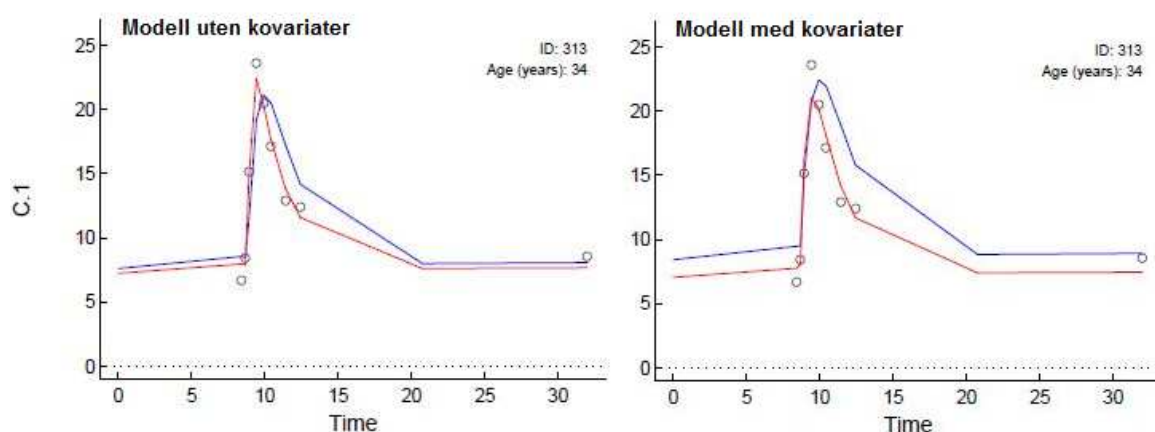
Figur 6 viser "quality of fit"-plottene for den endelige modellen.





**Figur 6:** "Quality of fit"-plots for den endelige modellen; Observerte/predikerte konsentrasjoner for alle pasientene for de populasjonspredikerte konsentrasjonene (Population) og for de individuelt predikerte konsentrasjonene (Post Hoc).

Konsentrasjon/tid-kurvene for pasient 313 før og etter inklusjon av kovariater presenteres i figur 7.



**Figur 7:** Konsentrasjon/tid-kurver for pasient 313 for modellene med og uten kovariater; Sirklene er de observerte konsentrasjonene; De røde linjene (—) er de individuelt predikerte konsentrasjonene (IPRED); De blå linjene (—) er de populasjonspredikerte konsentrasjonene (PRED).

Konsentrasjon/tid-kurvene for samtlige av pasientene med den endelige modellen er lagt ved i appendiks 6.8.

### 3.3.1 Kontrollfilen for den endelige modellen

Kontrollfilen for den endelige farmakokinetiske populasjonsmodellen er presentert i figur 8.

```

$PROBLEM Takrolimusmodelling

$DATA Input_takrodata.txt

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER CYP HCT ALB
ASAT

$SUBROUTINE ADVAN4

$PK
  TVCL=THETA(1)*CYP+THETA(7)*(1-CYP)

  TVV1=THETA(2)

  TVQ=THETA(3)*CYP+THETA(8)*(1-CYP)

  TVV2=THETA(4)

  TVKA=THETA(5)

  TVALAG=THETA(6)*(WT/84)

  CL=TVCL*EXP(ETA(1))           ;Clearance (CL/F) L/hr
  V1=TVV1*EXP(ETA(2))           ;Central volume (V1/F), L
  Q=TVQ*EXP(ETA(3))             ;Intercompartmental clearance (Q/F)
  V2=TVV2*EXP(ETA(4))           ;Peripheral volume (V2/F), L
  KA=TVKA*EXP(ETA(5))           ;Absorption rate constant, 1/hr
  ALAG1=TVALAG*EXP(ETA(6))       ;Absorption lag time, hr

  S2=V1

  K=CL/V1
  K23=Q/V1
  K32=Q/V2

$ERROR
  IPRED=F
  Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)

$THETA (1,21.3)  ;THETA(1) is POPCL/F
$THETA (1,70.5)  ;THETA(2) is POPV1/F
$THETA (1,44.7)  ;THETA(3) is POPQ/F
$THETA (1,715)   ;THETA(4) is POPV2/F
$THETA (0.1,0.644) ;THETA(5) is POPKA
$THETA (0.1,0.411) ;THETA(6) is POPLAGTIME
$THETA (1,72.1)  ;7
$THETA (1,128)   ;8

$OMEGA
0.2  ;BSVCL/F
0.2  ;BSVV1/F
0.2  ;BSVQ/F
0.2  ;BSVV2/F
0.1  ;BSVKA
0.01 ;BSVALAG1

$SIGMA 0.2  ;ERRCV, Proportional error (%)
$SIGMA 10   ;ERRSD, Additive error (ug/l)

```

```

$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT

$TABLE ID TIME DV IPRED MDV
NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt

$TABLE ID CL V1 Q V2 KA ALAG1 ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 ETA6 WT AGE TXT STER
FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt

```

**Figur 8:** Kontrollfilen for den endelige modellen med kovariater.

## 3.4 Validering

### 3.4.1 Jackknife

Konfidensintervallene presenteres i tabell 9. Konfidensintervallet for Q/F ble beregnet ved å benytte en z-test. De resterende parameterestimaterne var ikke normalfordelte, og konfidensintervallene ble beregnet ved å benytte Wilcoxon signed rank tester.

**Tabell 9:** Resultater fra Jackknife

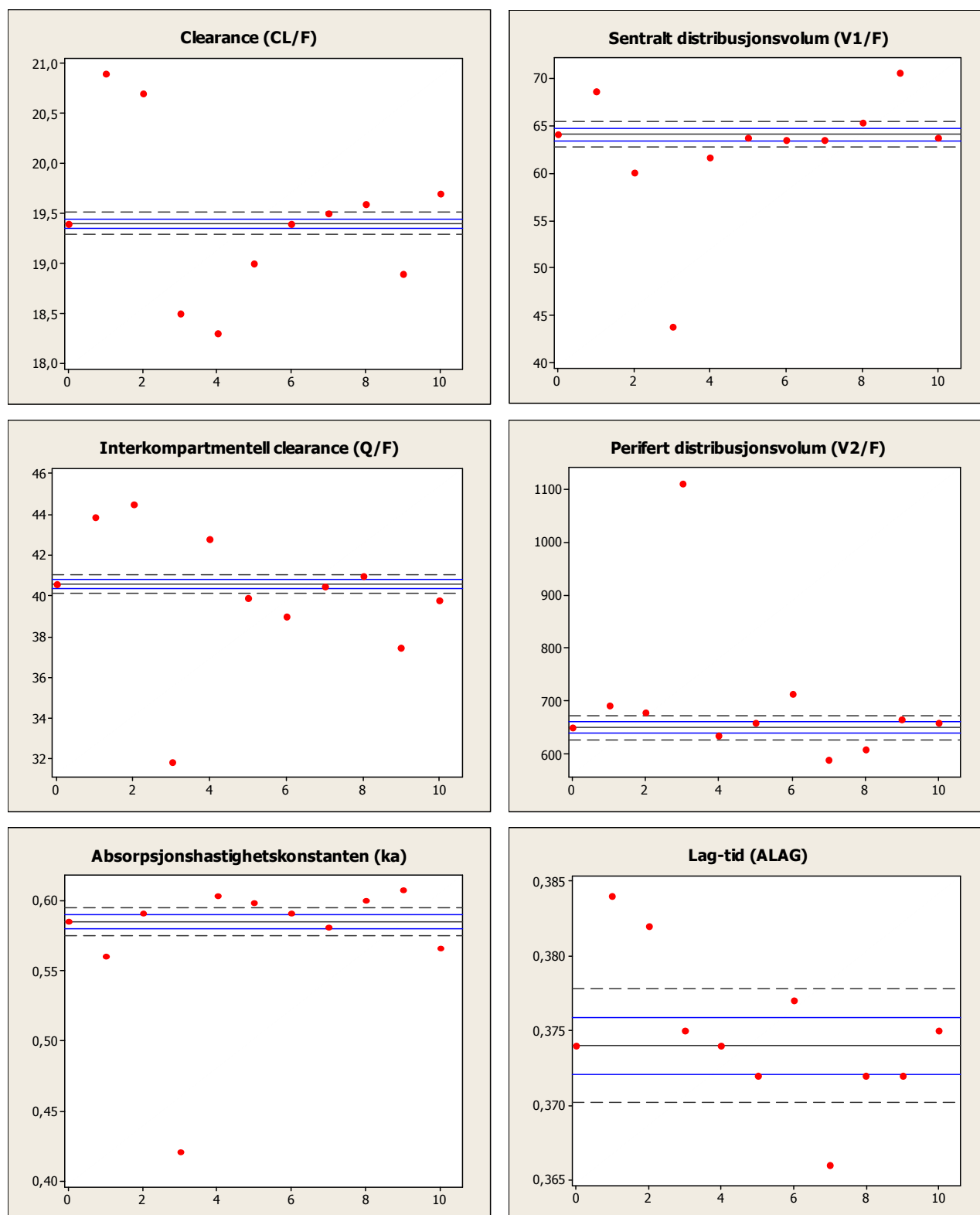
Parameter	Gjennomsnitt	Median	SD	SE	95 % KI nedre	95 % KI øvre
CL/F (L/t)	19,4	19,4	0,315	0,054	19,35	19,50
V <sub>1</sub> /F (L)	63,2	63,6	3,97	0,681	62,35	64,65
Q/F (L/t)	40,5	40,5	1,32	0,226	40,06	40,94
V <sub>2</sub> /F (L)	661	649,5	66,1	11,3	643,0	662,5
k <sub>a</sub> (t <sup>-1</sup> )	0,578	0,585	0,029	0,0050	0,5825	0,5880
ALAG (t)	0,374	0,374	0,011	0,0019	0,373	0,377
CL <sub>CYP</sub> /F (L/t)	65,5	65,5	2,09	0,358	65,45	65,50
Q <sub>CYP</sub> /F (L/t)	117	116	8,26	1,42	116	117
SD = standardavvik; SE = standardfeil; 95 % KI nedre = nedre grense i 95 % konfidensintervall; 95 % KI øvre = øvre grense i 95 % konfidensintervall						

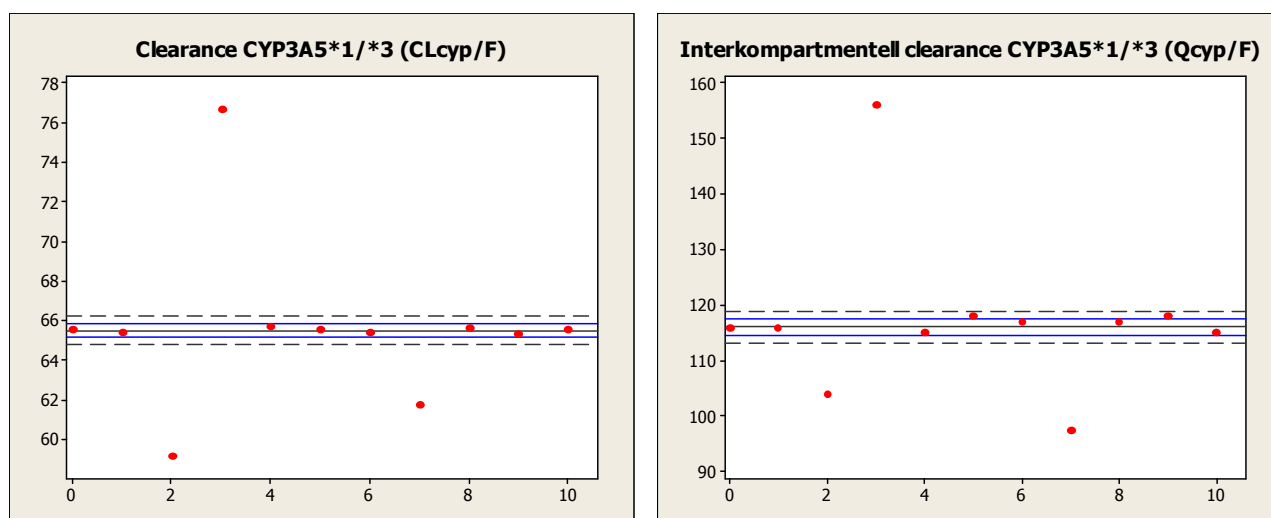
Parameterestimaterne for hver av de 34 gruppene er oppsummert i appendiks 6.9. De indikerer at spesielt pasient 101, men også pasient 105 har signifikante effekter på parameterestimaterne. Gruppen uten pasient 101 hadde parameterestimer for V<sub>1</sub>/F, Q/F, V<sub>2</sub>/F og k<sub>a</sub> som skilte seg fra de øvrige gruppene, mens parameterestimaterne for k<sub>a</sub>, ALAG og Q<sub>CYP</sub>/F i gruppen uten pasient 105 skilte seg fra de andre gruppene. CL<sub>CYP</sub>/F hadde verdier som skilte seg ut for gruppene uten pasient 103, 105 og 319.

### 3.4.2 Data-splitting

Figur 9 viser parameterestimaterne til de ti undergruppene, samt avstanden fra den endelige modellens parameterestimer. For alle parametrene er det grupper som faller utenfor +/- 2

SE. For  $V_1/F$ ,  $Q/F$ ,  $V_2/F$  og  $k_a$  er gruppe 3 en utligger fra de resterende gruppene. En oversikt over parameterestimaterne fra de ti undergruppene presenteres i appendiks 6.10.





**Figur 9:** Parameterestimer for den endelige modellen og de 10 undergruppene; X-aksen viser de ulike gruppene, der 0 er den endelige og 1-10 er de ulike undergruppene; Y-aksen viser parameterestimaterne; Den blå linjen (—) markerer +/- 1 standardfeil (SE) fra den endelige modellen; Den stiplede linjen (- - -) markerer +/- 2 SE fra den endelige modellen.

Kjøringen av det fulle datasettet med thetaestimer fiksert til resultatene fra kjøringene av de ti undergruppene, ga OFV fra 1323,75 til 1332,29 (tabell 10). Thetaestimatene fra undergruppe 2 og 3 ga  $\Delta \geq 3,84$  fra den endelige modellens OFV, med OFV på henholdsvis 1327,87 og 1332,29.

**Tabell 10:** Sammenligning av OFV fra data-splittingen med den endelige modellens OFV

Gruppe	OFV	$\Delta$
Full modell	1323,64	
Undergruppe 1	1325,17	1,53
Undergruppe 2	1327,87	4,23
Undergruppe 3	1332,29	8,65
Undergruppe 4	1324,51	0,87
Undergruppe 5	1323,84	0,2
Undergruppe 6	1323,93	0,29
Undergruppe 7	1324,32	0,68
Undergruppe 8	1323,75	0,11
Undergruppe 9	1324,45	0,81
Undergruppe 10	1323,81	0,17

Modellens evner til å predikere blodkonsentrasjoner er oppsummert i tabell 11. Detaljerte oversikter presenteres i appendiks 6.11.

**Tabell 11:** Oppsummering av modellens prediksjonsevne

		Ingen	t = 0	t = 0, 1	t = 0, 1, 3	Alle
<b>ME (µg/L)</b>	Gjennomsnitt	1,140	0,402	-0,198	-0,169	-0,070
	SD	4,640	2,201	1,177	0,837	0,163
	95 % KI nedre	-1,730	-0,963	-0,928	-0,688	-0,217
	95 % KI øvre	4,020	1,766	0,531	0,349	0,015
<b>MSE (µg/L)<sup>2</sup></b>	Gjennomsnitt	52,6	22,7	7,04	4,58	1,98
	SD	67,7	20,5	7,35	3,93	1,27
	95 % KI nedre	10,1	8,0	3,60	2,59	1,23
	95 % KI øvre	100,5	37,2	15,00	8,78	3,08
<b>RMSE (µg/L)</b>	Gjennomsnitt	4,58	3,07	1,77	1,42	0,980
	SD	3,39	1,33	0,73	0,44	0,250
	95 % KI nedre	2,30	2,07	1,36	1,18	0,837
	95 % KI øvre	7,02	4,00	2,46	1,86	1,222
<b>Gjennomsnitt SPE</b>	Gjennomsnitt	0,032	-0,028	0,064	0,039	0,0126
	SD	0,812	0,415	0,110	0,149	0,0246
	95 % KI nedre	-0,471	-0,282	-0,060	-0,062	-0,0026
	95 % KI øvre	0,536	0,321	0,188	0,154	0,0278
<b>SD SPE</b>	Gjennomsnitt	0,953	0,804	0,541	0,439	0,332
ME = mean prediction error; MSE = mean squared prediction error; RMSE = root mean squared prediction error; SPE = standardized prediction error; SD = standardavvik; 95 % KI nedre = nedre grense i 95 % konsifensintervall; 95 % KI øvre = øvre grense i 95 % konfidensintervall						

Ingen av gruppenes SPE var signifikant forskjellig fra 0 ( $p > 0,05$ ), beregnet med z-tester for datasettene med ingen, to og alle konsentrasjoner, og med Wilcoxon signed rank tester for datasettene med én og tre konsentrasjoner.

### 3.5 Den reduserte modellen

Modellen viste lav robusthet i valideringene, og pasient 101 påvirket thetaestimaterne i større grad enn de resterende pasientene. Data fra pasient 101 ble samlet inn kort tid etter transplantasjon. Tid etter transplantasjon kan være årsaken til at pasient 101 var en utligger, da kun de tre pasientene 101, 102 og 104 bidrar med data fra de første tre månedene etter transplantasjon. De tre pasientene ble ekskludert fra datasettet for å utrede om tid etter transplantasjon var årsaken til modellens svakheter. Det ble tatt utgangspunkt i en 2-kompartimentmodell med lag-tid og proporsjonell og additiv residual variasjon. Den reduserte modellens parameterestimer var  $CL/F = 21,1 \text{ L/t}$ ,  $V_1/F = 49,9 \text{ L}$ ,  $Q/F = 44,8 \text{ L/t}$ ,  $V_2/F = 823 \text{ L}$ ,  $k_a = 0,533 \text{ t}^{-1}$  og  $ALAG = 0,394 \text{ t}$ .

## 3.6 Kovariater for den reduserte modellen

### 3.6.1 Inklusjonstrinnet

Kovariatene ble analysert med samme prosedyre som den fulle modellen, men de kontinuerlige kovariatene ble sentrert rundt de nye medianverdiene: Vekt = 84,6 kg, alder = 42 år, txt = 1933,5 dager, døgndose prednisolon = 5 mg, hct = 40 %, albumin = 43 g/L og ASAT = 22,5 U/L. Alle kovariatene med unntak av alder og hct ga minst én signifikant endring av OFV i inklusjonstrinnet (tabell 12).

**Tabell 12:** Signifikante kovariater fra inklusjonstrinnet i kovariatanalysen av den reduserte modellen

Kovariat	Parameter	Ligning	OFV	$\Delta$ OFV	p
Tid etter transplantasjon	CL/F	$TVCL=\theta(1)-\theta(7)/(TXT/1933.5)$	1128,95	-10,38	<0,01
	Q/F	$TVQ=\theta(3)+\theta(7)/(TXT/1933.5)$	1134,91	-4,42	<0,05
Døgndose prednisolon	CL/F**	IF (STER.LE.14) THEN TVCL= $\theta(1)$ ELSE TVCL= $\theta(7)$ ENDIF	1133,7	-5,63	<0,05
	Q/F	$TVQ=\theta(3)+\theta(7)*(STER/5)$	1133,95	-5,38	<0,05
Albumin	$k_a$	$TVKA=\theta(5)-\theta(7)/(ALB/43)$	1135,41	-3,92	<0,05
	ALAG	$TVALAG=\theta(6)-\theta(7)/(ALB/43)$	1132,7	-6,63	<0,01
ASAT	CL/F*	$TVCL=\theta(1)-\theta(7)*(ASAT/22.5)$	1125,66	-13,67	<0,001
	$V_1/F^*$	$TVV1=\theta(2)-\theta(7)/(ASAT/22.5)$	1124,78	-14,55	<0,001
	Q/F**	$TVQ=\theta(3)/((ASAT/22.5)*EXP(\theta(7)))$	1131,03	-8,3	<0,01
	$k_a^*$	$TVKA=\theta(5)+\theta(7)/(ASAT/22.5)$	1134,83	-4,5	<0,05
	ALAG**	$TVALAG=\theta(6)*((ASAT/22.5)*EXP(\theta(7)))$	1122,32	-17,01	<0,001
Vekt	$V_1/F^*$	$TVV1=\theta(2)-\theta(7)/((WT/84.6)*EXP(0.75))$	1126,45	-12,88	<0,001
	$V_2/F$	$TVV2=\theta(4)-\theta(7)*(WT/84.6)$	1125,15	-14,18	<0,001
	$k_a^{**}$	$TVKA=\theta(5)/((WT/84.6)*EXP(\theta(7)))$	1132,58	-6,75	<0,01
	ALAG*	$TVALAG=\theta(6)-\theta(7)/((WT/84.6)*EXP(0.75))$	1101,7	-37,63	<0,001
CYP3A5	CL/F**	$TVCL=\theta(1)*CYP+\theta(7)*(1-CYP)$	1124,01	-15,32	<0,001
	Q/F*	$TVQ=\theta(3)*CYP+(\theta(3)*EXP(\theta(7)))*(1-CYP)$	1131,31	-8,02	<0,01
*flere ligninger ga en signifikant reduksjon i OFV, den med størst reduksjon ble beholdt videre					
**flere ligninger ga den samme signifikante reduksjonen i OFV, den ene ble beholdt videre					

Ingen av de signifikante kovariatene i inklusjonstrinnet ga økt residual variasjon eller forverring av grafiske fremstillinger, bortsett fra tid etter transplantasjon på CL/F. Denne kovariaten forverret GOF-plottene, og økte den interindividuelle variasjon for CL/F fra 59,5 % til 79,1 %. Kovariaten ble dermed utelatt fra den videre analysen.

### 3.6.2 Eksklusjonstrinnet

Etter eksklusjonstrinnene var *CYP3A5*-genotype på CL/F, ASAT på CL/F og vekt på lag-tid gjenværende som signifikante kovariater i modellen. Modellen kjørte ikke når kovariaten ASAT på  $k_a$  ble ekskludert fra modellen, da dette ga negative verdier. Kovariaten ble dermed beholdt i modellen til det var mulig å ekskludere den. Den ga da en ikke-signifikant endring av OFV, og gikk ikke videre i analysen. Modellen kjørte ikke med kovariaten albumin på lag-tid, da denne kovariaten i kombinasjon med de andre kovariatene på lag-tid ga negative verdier. Albumin på lag-tid ble dermed utelatt fra eksklusjonstrinnene. Etter eksklusjonstrinnene ble den signifikante kovariaten vekt på lag-tid erstattet med albumin. Ved eksklusjon av albumin på lag-tid økte OFV signifikant, men modellen med *CYP3A5*-genotype og ASAT på CL/F og albumin på lag-tid hadde en signifikant høyere OFV (1092,28) enn modellen med *CYP3A5*-genotype og ASAT på CL/F og vekt på lag-tid (1075,58).

## 3.7 Den endelige reduserte modellen

Kontrollfilen til den endelige reduserte modellen presenteres i appendiks 6.12. Modellen hadde følgende kovariater:

*CYP3A5*-genotype og ASAT på CL/F:  $TVCL = \theta(1) * CYP + \theta(7) * (1 - CYP) - (\theta(8) * (ASAT/22.5))$

Vekt på ALAG:  $TVALAG = \theta(6) - \theta(9) / ((WT/84.6) * EXP(0.75))$

der pasientene med *CYP3A5*\*1/\*3 ( $CYP = 0$ ) får  $CL_{CYP/F} = \theta(7) - (\theta(8) * (ASAT/22.5))$ , mens pasienter med *CYP3A5*\*3/\*3 ( $CYP = 1$ ) får  $CL/F = \theta(1) - (\theta(8) * (ASAT/22.5))$ .

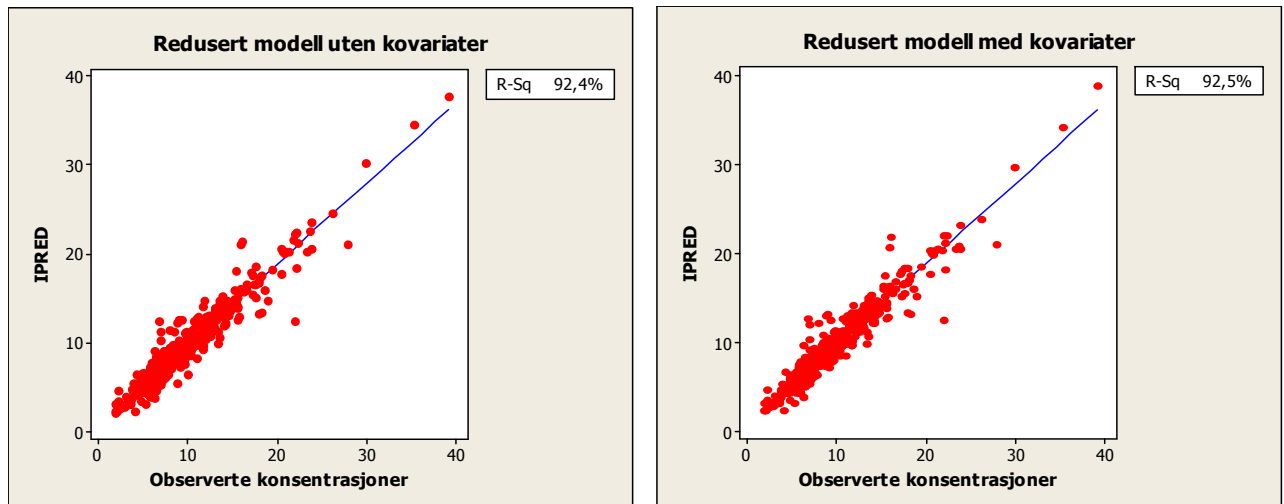
I modellen med kovariater ble OFV og residual additiv variasjon redusert, mens residual proporsjonell variasjon var tilnærmet uendret (tabell 13). Modellen med kovariater var mer stabil for initielle thetaestimer og hadde en kort kjøretid.



**Tabell 13:** Sammenligning av OFV, parameterestimer, interindividuell variasjon og residual variasjon for de reduserte modellene med og uten kovariater

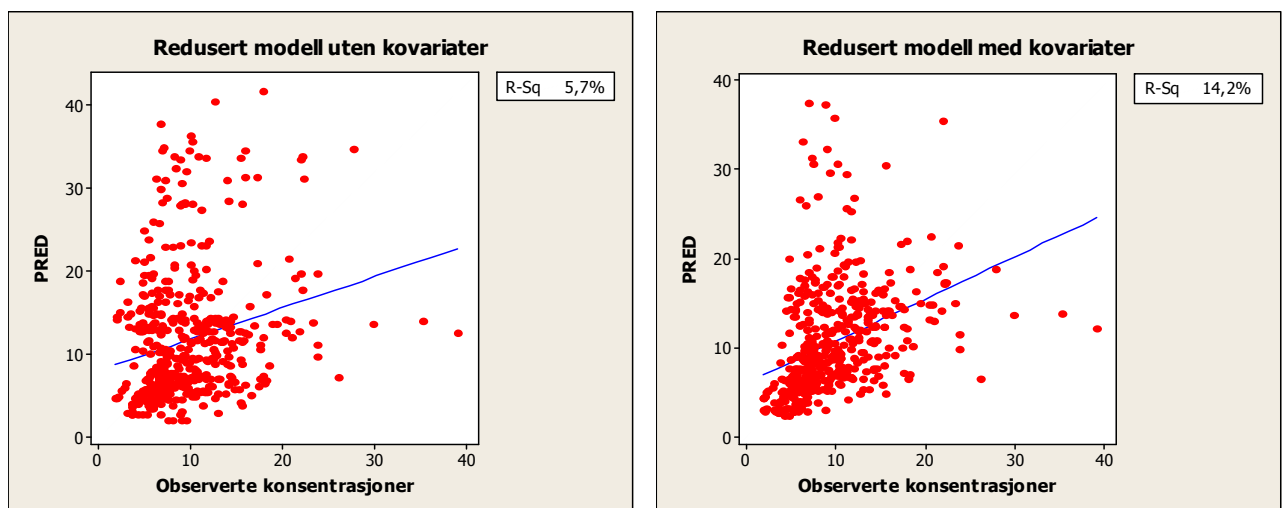
	<b>2-kompartment m/lag-tid uten kovariater</b>	<b>2-kompartment m/lag-tid med kovariater</b>
<b>OFV</b>	1139,33	1075,58
<i>Parameterestimer</i>		
<b>CL/F (L/t)</b>	21,1	19,3
<b>V<sub>1</sub>/F (L)</b>	49,9	54,9
<b>Q/F (L/t)</b>	44,8	44,2
<b>V<sub>2</sub>/F (L)</b>	823	760
<b>k<sub>a</sub> (t<sup>-1</sup>)</b>	0,533	0,545
<b>ALAG (t)</b>	0,394	0,419
<b>CL<sub>CYP</sub>/F (L/t)</b>	-	59,4
<i>Interindividuell variasjon (%)</i>		
<b>CL/F</b>	59,5	42,2
<b>V<sub>1</sub>/F</b>	94,3	126,5
<b>Q/F</b>	65,0	67,3
<b>V<sub>2</sub>/F</b>	109,5	101,0
<b>k<sub>a</sub></b>	19,0	0,1
<b>ALAG</b>	0,032	0,1
<i>Residual variasjon</i>		
<b>Proporsjonell (%)</b>	12,9	13,0
<b>Additiv (µg/L)</b>	0,738	0,626
CL/F = clearance; V <sub>1</sub> /F = sentralt distribusjonsvolum; Q/F = interkompartimentell clearance; V <sub>2</sub> /F = perifert distribusjonsvolum; k <sub>a</sub> = absorpsjonshastighetskonstanten; ALAG = lag-tid; CL <sub>CYP</sub> /F = clearance for pasientene med CYP3A5*1/*3		

GOF-plottene viste at modellens evne til å estimere de individuelt predikerte konsentrasjonene ikke ble endret ved inklusjon av kovariater (figur 10).



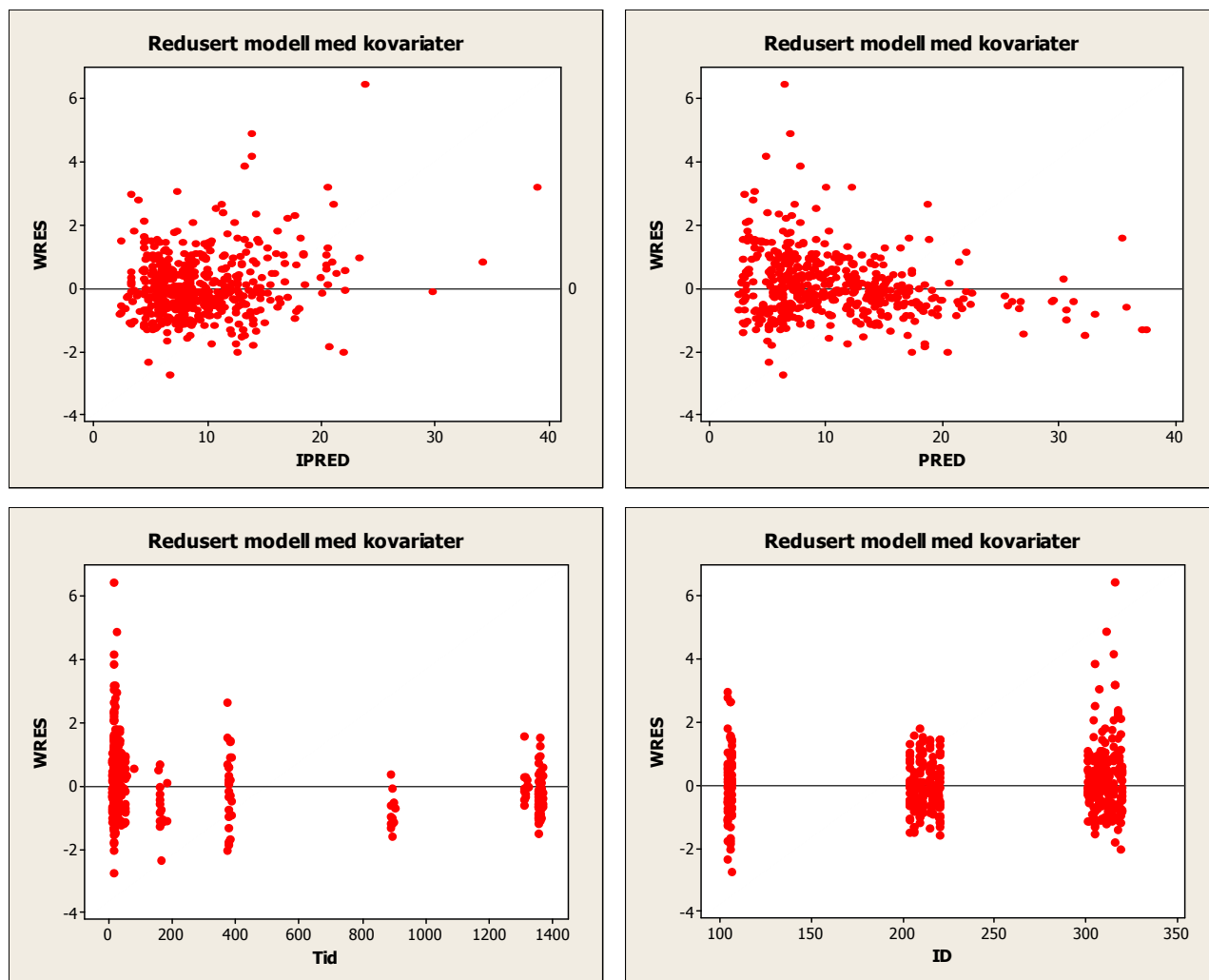
**Figur 10:** GOF-plots av individuelt predikerte observasjoner (IPRED) vs. observerte konsentrasjoner i de reduserte modellene med og uten kovariater.

Modellen med kovariater fikk en bedre evne til å estimere populasjonspredikerte konsentrasjoner, og økte  $r^2$ -verdien fra 5,7 % til 14,2 % (figur 11).



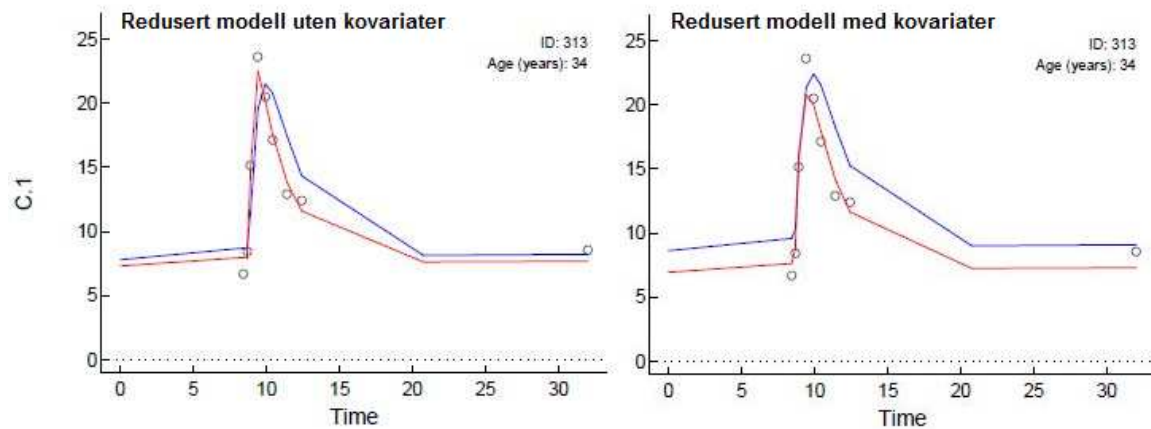
**Figur 11:** GOF-plots av populasjonspredikerte observasjoner (PRED) vs. observerte konsentrasjoner i modellene med og uten kovariater.

Residualplottene (figur 12) viser distribusjonen av "weighted residuals" (WRES) over variablene individuelt predikerte konsentrasjoner, populasjonspredikerte konsentrasjoner, prøvetakingstidspunkt og pasienter.



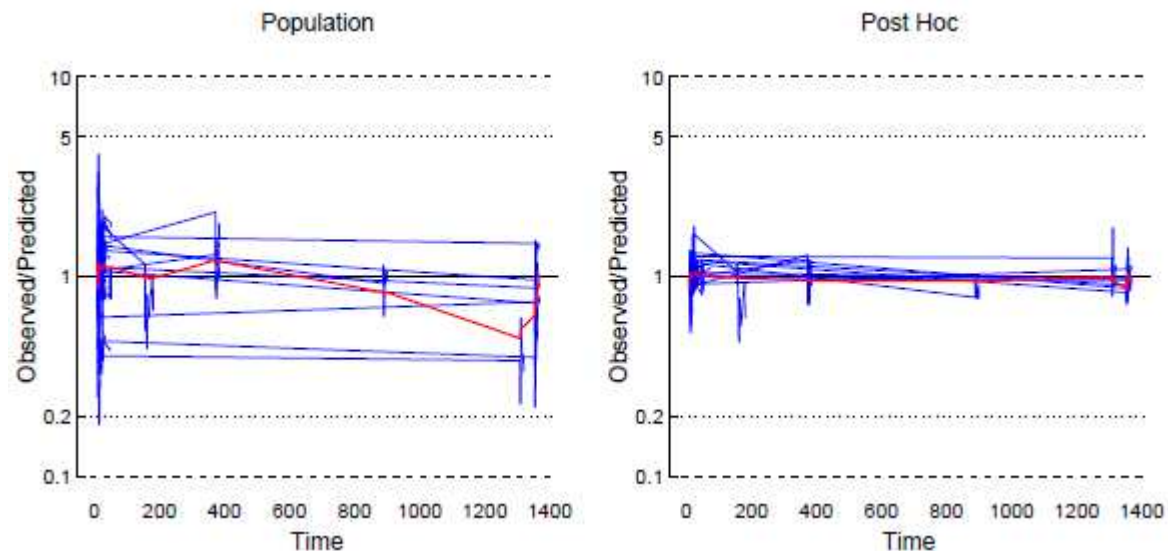
**Figur 12:** GOF-plots av "weighted residuals" (WRES) vs. individuelt predikerte konsentrasjoner (IPRED), populasjonspredikerte konsentrasjoner (PRED), prøvetakingstidspunkt (tid) og pasienter (ID) for den reduserte modellen.

Konsentrasjon/tid-kurvene for pasient 313 før og etter inklusjon av kovariater i den reduserte modellen presenteres i figur 13.



**Figur 13:** Konsentrasjon/tid-kurver for pasient 313 for de reduserte modellene med og uten kovariater; Sirklene er de observerte konsentrasjonene; De røde linjene (—) er de individuelt predikerte konsentrasjonene (IPRED); De blå linjene (—) er de populasjonspredikerte konsentrasjonene (PRED).

Figur 14 viser ”quality of fit”-plottene for den endelige reduserte modellen.



**Figur 14:** ”Quality of fit”-plots for den endelige reduserte modellen; Observerte/predikerte konsentrasjoner for alle pasientene for de populasjonspredikerte konsentrasjonene (Population) og for de individuelt predikerte konsentrasjonene (Post Hoc).

## 3.8 Validering av den reduserte modellen

### 3.8.1 Jackknife

Konfidensintervallene presenteres i tabell 14. Konfidensintervallet for Q/F ble beregnet ved å benytte en z-test. De resterende parameterestimaterne var ikke normalfordelte, og konfidensintervallene ble beregnet ved å benytte Wilcoxon signed rank tester. Ingen enkeltpasienter hadde signifikante effekter på thetaestimaterne.

**Tabell 14:** Resultater fra Jackknife for den reduserte modellen

Parameter	Gjennomsnitt	Median	SD	SE	95 % KI nedre	95 % KI øvre
<b>CL/F (L/t)</b>	19,2	19,2	0,535	0,0962	19,12	19,38
<b>V<sub>1</sub>/F (L)</b>	55,6	54,1	4,855	0,872	53,60	56,10
<b>Q/F (L/t)</b>	44,4	44,4	1,559	0,280	43,89	44,99
<b>V<sub>2</sub>/F (L)</b>	768,6	760,0	64,9	11,7	749,0	775,5
<b>k<sub>a</sub> (t<sup>-1</sup>)</b>	0,546	0,546	0,0101	0,0018	0,544	0,549
<b>ALAG (t)</b>	0,423	0,418	0,0150	0,0027	0,418	0,420
<b>CL<sub>CYP</sub>/F (L/t)</b>	59,7	59,3	3,186	0,572	59,06	59,70

SD = standardavvik; SE = standardfeil; 95 % KI nedre = nedre grense i 95 % konfidensintervall; 95 % KI øvre = øvre grense i 95 % konfidensintervall

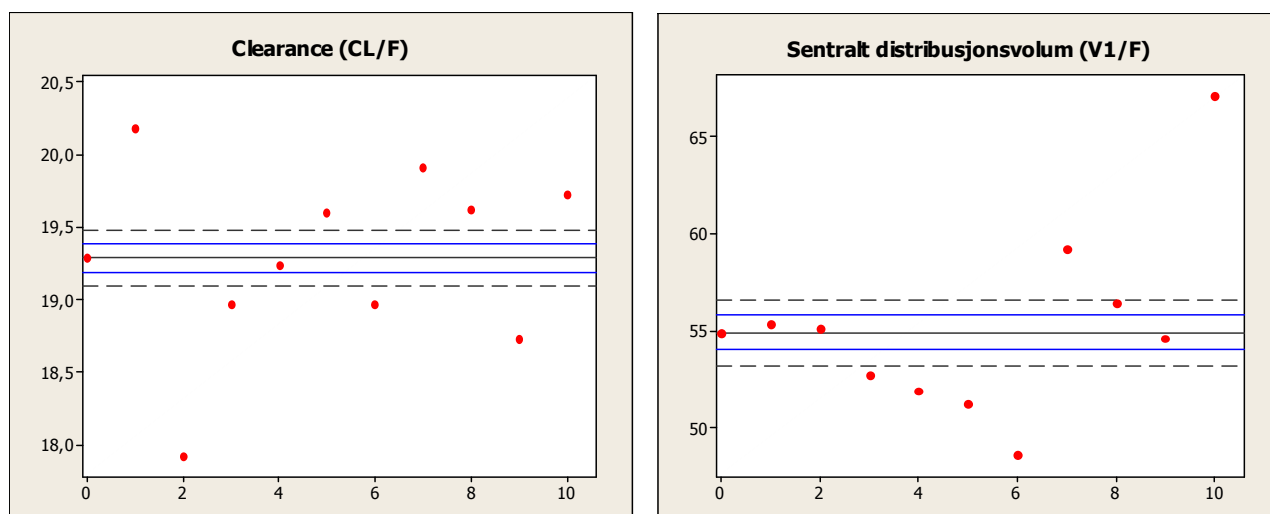
### 3.8.2 Data-splitting

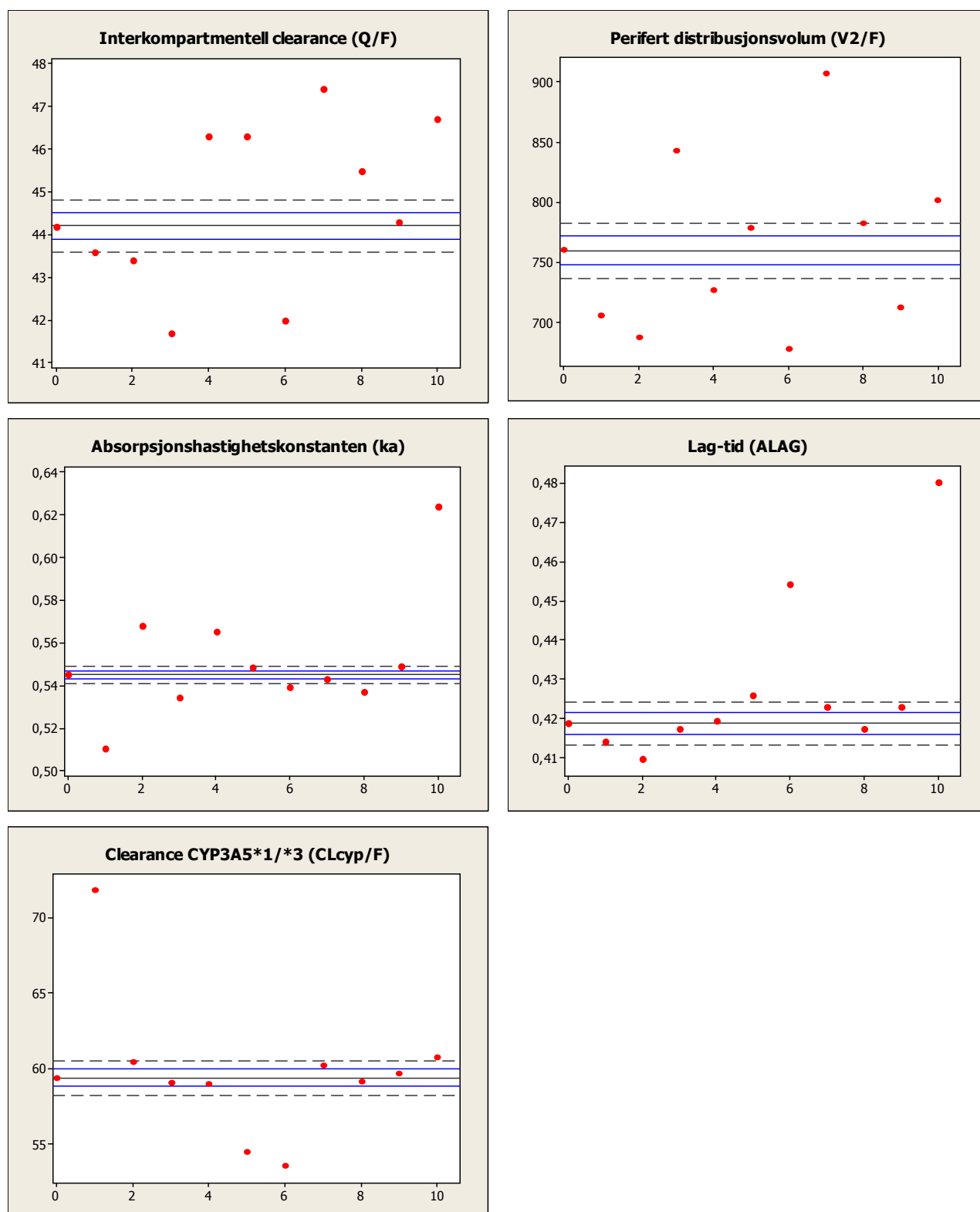
Den nye undergruppeinndelingen presenteres i tabell 15.

**Tabell 15:** Pasienter ekskludert fra de ulike undergruppene i data-splittingen for det reduserte datasettet

Gruppe	Ekskluderte pasienter			
1	105	214	307	317
2	206	219	311	
3	301	216	313	
4	312	203	310	
5	103	304	306	
6	210	305	319	
7	308	106	309	
8	315	302	303	
9	318	314	320	
10	316	220	209	

Figur 15 viser parameterestimaterne til de ti undergruppene, samt avstanden fra den endelige reduserte modellens parameterestimer.





**Figur 15:** Parameterestimer for den endelige reduserte modellen og de 10 undergruppene; X-aksen viser de ulike gruppene, der 0 er den endelige reduserte modellen og 1-10 er de ulike undergruppene; Y-aksen viser parameterestimaterne; Den blå linjen (—) markerer +/- 1 standardfeil (SE) fra den endelige reduserte modellen; Den stiplede linjen (- - -) markerer +/- 2 SE fra den endelige reduserte modellen.

OFV til den fulle reduserte modellen sammenlignes med OFV fra kjøringene av det fulle datasettet med thetaestimer fiksert til resultatene fra undergruppekjøringene i tabell 16.

**Tabell 16:** Sammenligning av OFV fra data-splittingen for den reduserte modeller med den endelige reduserte modellenes OFV

Gruppe	OFV	$\Delta$
Full modell	1075,58	
Undergruppe 1	1077,33	1,75
Undergruppe 2	1078,09	2,51
Undergruppe 3	1076,14	0,56
Undergruppe 4	1076,02	0,44
Undergruppe 5	1076,15	0,57
Undergruppe 6	1085,03	9,45
Undergruppe 7	1077,33	1,75
Undergruppe 8	1075,81	0,23
Undergruppe 9	1075,88	0,30
Undergruppe 10	1080,00	4,42

Modellens evner til å predikere blodkonsentrasjoner er oppsummert i tabell 17.

Konfidensintervallene markert med \* ble beregnet med z-tester. De resterende konfidensintervallene ble beregnet med Wilcoxon signed rank tester.

**Tabell 17:** Oppsummering av prediksjonsevne for den reduserte modell

		Ingen	t = 0	t = 0, 1	t = 0, 1, 3	Alle
<b>ME (µg/L)</b>	Gjennomsnitt	1,250	0,586	-0,362	-0,316	-0,039
	SD	4,520	2,440	0,714	0,562	0,121
	95 % KI nedre	-1,270	-0,927*	-1,020	-0,710	-0,114*
	95 % KI øvre	4,620	2,098*	0,090	0,059	0,036*
<b>MSE (µg/L)<sup>2</sup></b>	Gjennomsnitt	43,2	24,6	4,90	3,52	1,90
	SD	68,6	27,8	2,05	2,04	1,32
	95 % KI nedre	15,0	10,9	3,35	1,93	0,84
	95 % KI øvre	123,0	53,6	6,63	4,99	2,94
<b>RMSE (µg/L)</b>	Gjennomsnitt	4,193	3,049	1,540	1,253	0,925
	SD	3,121	1,381	0,405	0,327	0,264
	95 % KI nedre	2,770	2,170	1,289*	1,007	0,726
	95 % KI øvre	7,600	4,030	1,791*	1,488	1,131
<b>Gjennomsnitt SPE</b>	Gjennomsnitt	-0,070	-0,001	0,095	0,085	0,0086
	SD	0,700	0,533	0,151	0,115	0,0333
	95 % KI nedre	-0,504*	-0,321	0,001*	0,014*	-0,0120*
	95 % KI øvre	0,364*	0,498	0,188*	0,156*	0,0293*
<b>SD SPE</b>	Gjennomsnitt	0,960	0,839	0,557	0,448	0,337

ME = mean prediction error; MSE = mean squared prediction error; RMSE = root mean squared prediction error; SPE = standardized prediction error; SD = standardavvik; 95 % KI nedre = nedre grense i 95 % konsifensintervall; 95 % KI øvre = øvre grense i 95 % konfidensintervall; \* = konfidensintervall beregnet med en z-test

SPE for datasettet uten noen konsentrasjoner, med én konsentrasjon og med alle konsentrasjonene var ikke signifikant forskjellige fra 0 ( $p > 0,05$ ). SPE for datasettene med to og tre konsentrasjoner var signifikant forskjellig fra 0 ( $p < 0,05$ ). Alle beregningene ble gjort med z-tester, bortsett fra gruppen med én konsentrasjon som ble beregnet med en Wilcoxon signed rank test.

## 4. Diskusjon

### 4.1 Modellbygging

Den populasjonsfarmakokinetiske analysen av takrolimus i nyretransplanterte pasienter viste at en 2-kompartimentmodell med lag-tid i absorpsjonsfasen ga en god beskrivelse pasientenes blodkonsentrasjoner.

I tidligere farmakokinetiske populasjonsstudier av takrolimus i nyretransplanterte pasienter har både 1- og 2-kompartimentmodeller med og uten lag-tid eller Erlang-distribusjon i absorpsjonsfasen gitt en god beskrivelse av farmakokinetikken til takrolimus. Disse modellene er basert på ulike typer pasientdata. I studiene som kun har benyttet  $C_0$ -konsentrasjoner har 1-kompartimentmodeller gitt den beste tilpasningen til blodkonsentrasjonene, mens i studiene som har inkludert data fra både absorpsjons- og distribusjonsfasene har 2-kompartimentmodeller med og uten lag-tid eller Erlang-distribusjon gitt den beste beskrivelsen av farmakokinetikken til takrolimus [29]. I denne analysen var minimum fire blodkonsentrasjoner tilgjengelig fra hver pasient, og 12-timers farmakokinetiske profiler var tilgjengelig fra flere av pasientene. Kompartimentmodellen samsvarer dermed med resultatene fra tidligere studier.

#### 4.1.1 1- og 2-kompartimentmodellene

1- og 2-kompartimentmodellene med og uten lag-tid i absorpsjonsfasen og 2-kompartimentmodellene med Erlang-distribusjon i absorpsjonsfasen var stabile modeller som klarte å beskrive farmakokinetikken til takrolimus. Parameterestimater varierer i stor grad mellom de publiserte studiene, men modellenes parameterestimer lå omtrent i samme områder som i de tidligere publiserte studiene [25, 27-34]. Parameterestimater for  $CL/F$  og  $ALAG$  var konsistente,  $Q/F$  endret seg noe for de ulike modellene, mens estimatene for  $V_1/F$ ,  $V_2/F$ ,  $k_a$  og  $k_{tr}$  i større grad ble påvirket av modellens grunnleggende struktur (tabell 5). Inklusjon av lag-tid i 1- og 2-kompartimentmodellene påvirket verdiene for  $k_a$  og  $V_1/F$ . Disse effektene kan forventes, da inklusjon av lag-tid i modellen fører til at de høyeste blodkonsentrasjonene må predikeres raskere enn for modellene uten lag-tid. Dette forklarer



den økte absorpsjonshastighetskonstanten ved inklusjon av lag-tid i 1-kompartimentmodellen, og det lavere sentrale distribusjonsvolumet ved inklusjon av lag-tid i 2-kompartimentmodellene.  $V_1/F$  var som forventet høyere for 1-kompartimentmodellene enn for 2-kompartimentmodellene. I 2-kompartimentmodellene endret  $V_2/F$  seg ved inklusjon av Erlang-distribusjon. Denne effekten kan forklares ved at Erlang-kompartimenter gir en mer gradvis absorpsjonsfase enn lag-tid, og dermed påvirker distribusjonsfasen over lengre tid. Dette kan bidra til et lavere perifert distribusjonsvolum. Som forventet var  $k_{tr}$  avhengig av antall Erlang-kompartimenter.

Det var kun små forskjeller mellom de ulike Erlang-modellene, men modellen med tre Erlang-kompartimenter hadde den beste beskrivelsen av pasientenes blodkonsentrasjoner, med lav OFV og residual variasjon (tabell 4), samt gode evner til å predikere blodkonsentrasjonene (figur 2). Prediksjonen av enkelte av de høyeste blodkonsentrasjonene ble noe forbedret ved inklusjon av flere Erlang-kompartimenter, men forskjellene mellom tre og fire Erlang-kompartimenter var minimal. En god beskrivelse av farmakokinetikken til takrolimus med tre Erlang-kompartimenter bekreftes av funnene i tidligere publiserte studier med Erlang-modeller [31, 33].

OFV var lavere for 2-kompartimentmodellene enn for 1-kompartimentmodellene, og ble ytterligere redusert når lag-tid eller Erlang-distribusjon ble inkludert i modellen (tabell 4). OFV var lavest for 2-kompartimentmodellene med lag-tid eller Erlang-distribusjon. Lag-tid og Erlang-distribusjon forbedret også modellenes evne til å predikere de høyeste blodkonsentrasjonene (figur 2). Alle modellene ga en god prediksjon av distribusjonsfasen, bortsett fra 1-kompartimentmodellene som overpredikerte disse blodkonsentrasjonene.

Det var små forskjeller mellom 2-kompartimentmodellen med lag-tid og 2-kompartimentmodellen med tre Erlang-kompartimenter. Begge modellene var stabile og hadde en lav residual variasjon. Erlang-modellen hadde lavest OFV og en litt bedre evne til å predikere enkelte av de høyeste blodkonsentrasjonene, men hadde også en forholdsvis lang kjøretid. På grunn av den lange kjøretiden til Erlang-modellen ble det valgt å gå videre med 2-kompartimentmodellen med lag-tid siden prediksjon av de høyeste blodkonsentrasjonene sannsynligvis kan forbedres i denne modellen ved inklusjon av kovariater, mens kjøretiden for Erlang-modellen sannsynligvis vil øke ytterligere ved inklusjon av kovariater. En modell med kort kjøretid vil kreve mindre dataressurser for å kjøre, og vil være lettere å jobbe med

ved videre arbeid med modellen. En kort kjøretid er også positivt ved klinisk bruk av modellen.

#### 4.1.2 Interindividuell og residual variasjon

I tråd med samtlige av de tidligere populasjonsstudiene ble interindividuell variasjon uttrykt med eksponentielle modeller [25, 27-34]. Residual variasjon ble testet med både en additiv og en kombinert additiv og proporsjonell modell. 2-kompartimentmodellen med lag-tid og kombinert proporsjonell og additiv residual variasjon hadde en lavere OFV enn modellen med kun additiv residual variasjon (tabell 4), og hadde en tilsynelatende tilsvarende evne til å predikere blodkonsentrasjoner (figur 2). Modellen med kombinert residual variasjon ble derfor beholdt videre i analysen. Det er usikkert hvor stor betydning for de videre resultatene av kovariatanalysen og valideringen et annet valg av uttrykk for residual variasjon ville hatt.

#### 4.1.3 3-kompartimentmodellene

3-kompartimentmodellene med og uten lag-tid ble ikke stabile for initielle thetaestimer. Da ingen av de publiserte modellene har benyttet 3-kompartimentmodeller for å beskrive farmakokinetikken til takrolimus, var det vanskelig å vite hvilke initielle thetaestimer som var gode verdier å ta utgangspunkt i. Flere ulike verdier ble testet (appendiks 6.7), blant annet fra ciklosporinmodeller [52, 53], da takrolimus og ciklosporin har flere farmakokinetiske likheter. Årsaken til modellenes ustabilitet kan være at de var uegnet til å beskrive farmakokinetikken til takrolimus i nyretransplanterte pasienter, eller at datasettet hadde for lite pasientdata, da en mer komplisert modell ofte krever en større mengde data. Modellen med lag-tid hadde en lav OFV og residual variasjon (tabell 4), og som for 1- og 2-kompartimentmodellene ga modellen med lag-tid en bedre beskrivelse av de høyeste blodkonsentrasjonene enn modellen uten lag-tid (figur 2). OFV var lavere for 3-kompartimentmodellen med lag-tid enn for 2-kompartimentmodellen med lag-tid. På grunn av modellens ustabilitet gir thetaestimatene, konsentrasjon/tid-kurvene og verdiene for OFV og residual variasjon lite informasjon. Det er mulig at et rikere datasett ville gitt en stabil modell, men det er usikkert om OFV og residual variasjon og GOF-plots for den stabile modellen fortsatt hadde indikert en tilsvarende eller bedre beskrivelse av pasientenes blodkonsentrasjoner enn en 2-kompartimentmodell.

## 4.2 Kovariater

Analysen av kovariater viste at *CYP3A5*-genotype og vekt påvirket farmakokinetikken til takrolimus i pasientene. Pasienter som uttrykte *CYP3A5* hadde en høyere clearance og interkompartimentell clearance. Effekten på  $CL/F$  er forventet, da tilstedeværelse av *CYP3A5* gir en økt metabolisme av takrolimus. Effekten er vist i flere av de tidligere publiserte studiene, men da med en mer moderat endring av clearance ( $\approx 1,5$ -2 ganger) [28-30, 33]. I denne analysen økte clearance  $\approx 3,5$  ganger for pasientene med *CYP3A5*\*1/\*3, og kan indikere at flere slike pasienter bør inkluderes i modellen for å bedre estimeringen av  $CL_{CYP}/F$ . Effekten på  $Q/F$  er ikke vist i publiserte studier, og har ingen åpenbar fysiologisk forklaring. En forklaring kan være at pasienter med *CYP3A5*\*1/\*3 har en høyere transportaktivitet mellom det sentrale og perifere kompartmentet, at det perifere kompartmentet inkluderer et eliminasjonsorgan, eller at dette kun er en god matematisk tilpasning i modellen uten noen fysiologisk sammenheng. Flere pasienter med minimum ett *CYP3A5*\*1-allel bør inkluderes i datasettet for å bekrefte eller avkrefte relevansen til denne kofaktoren. Økende vekt ga en økende lag-tid. Denne sammenhengen er ikke vist i tidligere publiserte studier, og har ingen åpenbar fysiologisk forklaring. En forventet effekt av vekt ville blant annet vært en påvirkning av distribusjonsvolum. Vekt har i en tidligere publisert studie i pediatrike pasienter blitt en signifikant kovariat på parametrene clearance, sentralt distribusjonsvolum, interkompartimentell clearance og perifert distribusjonsvolum [30]. Forklaringer på sammenhengen mellom vekt og lag-tid kan være at pasienter med høyere vekt kan ha en nedsatt gastrointestinal motilitet eller større tendens til å binde lipofile legemidler i tarmen. Årsaken kan også være av kun matematisk, og ikke fysiologisk betydning.

Etter eksklusjonstrinnene ble ligningen for kovariaten vekt på lag-tid erstattet med den nest beste ligningen for vekt på lag-tid da modellen ikke ble stabil for initielle thetaestimer. Begge ligningene ga en økende lag-tid for økende vekt. Det er uvisst om eksklusjonstrinnene hadde gitt andre resultater om de hadde blitt gjennomført om igjen med den nest beste ligningen for vekt på lag-tid, men det ble besluttet å erstatte ligningen etter endt analyse uten å undersøke dette noe videre.

I analysen av kovariater ble et 5 % signifikansnivå valgt i inklusjonstrinnet, mens et 1 % signifikansnivå ble valgt i eksklusjonstrinnet. Valg av signifikansnivå varierer i de tidligere

publiserte studiene, der noen har valgt strengere signifikansnivå, som 1 % i inklusjonstrinnet og 0,1 % i eksklusjonstrinnet. Valg av signifikansnivå kan være en av årsakene til at det er store variasjoner i hvilke kovariater som har blitt inkludert i de ulike publiserte modellene, og har påvirket hvilke kovariater som ble signifikante i denne modellen.

De kontinuerlige kovariatene ble sentrert rundt kovariatenes medianverdi. En slik sentrering gjør modellen mer numerisk stabil og gir parametrene en mer relevant betydning, da verdien relateres til hvordan pasientens kovariatverdi skiller seg fra populasjonsverdien [42, 44].

Kovariaten døgndose prednisolon ble analysert både som en kontinuerlig og som en binomisk kovariat. Antignac et al. [27] og Velickovic et al. [32] er to av studiene som delte inn pasientene ettersom døgndose prednisolon var  $> 25$  mg eller ikke, mens Woillard et al. [33] delte inn pasientene ettersom døgndose prednisolon var  $> 10$  mg eller ikke. I denne analysen ble pasientene inndelt ettersom døgndose prednisolon var  $\geq 15$  mg eller  $\leq 7,5$  mg, da antallet pasienter med høye prednisolondoser var lavt, og det i pasientpopulasjonen gikk et klart skille mellom pasientene som hadde lave døgndoser prednisolon (0-7,5 mg) og pasientene med høyere døgndoser (15-25 mg).

Døgndose prednisolon ble ikke en signifikant kovariat i den endelige modellen. Dette var forventet, da effekten av prednisolon vil være størst tidlig etter transplantasjon på grunn av høyere døgndoser i denne perioden. I dette datasettet var det få pasienter med data fra den tidlige fasen etter transplantasjon. Dette forklarer også årsaken til at tid etter transplantasjon ikke gikk videre som en signifikant kovariat, da data fra de fleste pasientene var hentet senere etter transplantasjon når farmakokinetikken til takrolimus har stabilisert seg. Verken hematokrit, albumin eller ASAT ble signifikante kovariater. Dette var forventet, da det ikke var stor heterogenitet i disse verdiene blant pasientene i datasettet. Som i de tidligere publiserte studiene, ble heller ikke alder en signifikant kovariat.

Valg av kovariater som ble undersøkt i denne analysen var basert på kjente eller teoretisk sannsynlige sammenhenger mellom kovariater og farmakokinetikken til takrolimus, samt resultatene fra de tidligere publiserte populasjonsstudiene. Andre faktorer enn de som ble undersøkt i denne analysen kan også ha bidratt til interindividuelle variasjoner. Mutasjoner i *ABCB1* og pregnan-reseptor X (PXR) er eksempler på faktorer som har blitt signifikante i tidligere publiserte studier, men ikke ble undersøkt i denne analysen [28, 29]. PXR er involvert i reguleringen av uttrykket av en rekke gener, blant annet *CYP3A* og *ABCB1* [55].

### 4.3 Den endelige modellen

Etter inklusjon av kovariater ble OFV og additiv residual variasjon redusert, mens den proporsjonelle residuale variasjonen var tilnærmet uendret (tabell 8). Interindividuell variasjon ble redusert for flere av parametrene. Modellen ble mer robust for initiale thetaestimer, og kjøretiden var fortsatt kort. Residual variasjon var på samme nivå som for de tidligere publiserte studiene med kombinerte proporsjonelle og additive variasjonsmodeller [27, 29, 31, 33]. Interindividuell variasjon varierer i stor grad mellom de tidligere publiserte studiene. Den endelige modellens interindividuelle variasjon lå omtrent i samme områder som i de publiserte studiene, med unntak av  $V_1/F$  og  $V_2/F$  som hadde en høyere interindividuell variasjon enn majoriteten av de tidligere publiserte studiene [25, 27-31, 33]. Dette indikerer at den interindividuelle variasjonen sannsynligvis kan reduseres ytterligere ved inklusjon av flere kovariater. Parameterestimatene endret seg ikke i stor grad etter inklusjon av kovariater, og lå dermed fortsatt i samme områder som verdiene fra de tidligere publiserte studiene.

Modellen fikk ikke den ønskede forbedringen i å estimere enkelte av de høye blodkonsentrasjonene (figur 7, appendiks 6.8). Inklusjon av kovariatene ga en forbedring i modellens evne til å estimere de populasjonspredikerte konsentrasjonene (figur 4), men spredningen viser imidlertid at ytterligere forbedring av estimeringen av disse konsentrasjonene er nødvendig. Modellens evne til å estimere de individuelle konsentrasjonene var fortsatt god (figur 3). I plottene av "weighted residuals" (figur 5) lå de fleste WRES innenfor to eller tre enheter. Plottene viste en homogen distribusjon av WRES over individuelt predikerte konsentrasjoner (IPRED), med noen få WRES som lå flere enheter fra 0 enn majoriteten for de høyere konsentrasjonene. Dette kan indikere at den individuelle prediksjonen av de høyeste konsentrasjonene bør forbedres. WRES var homogent distribuert om de populasjonspredikerte konsentrasjonene (PRED), men med en liten antydning til negative "weighted residuals" for de høyeste konsentrasjonene. Dette indikerer at modellens populasjonsprediksjon av de høyeste blodkonsentrasjonene bør forbedres. Den høyere spredningen av WRES for de lave populasjonspredikerte konsentrasjonene kan indikere vansker med å predikere disse konsentrasjonene, eller kan være en resultat av at det er flere lave enn høye observerte konsentrasjoner i datasettet. WRES ligger også homogent distribuert over prøvetakingstidspunkt (tid) og pasienter (ID),

men med en større spredning for tidlige prøvetakingstidspunkt og for pasientene 300-320. Dette kan være et resultat av at det foreligger et større antall observasjoner for disse tidspunktene og pasientene. Ved tid = 900 er det en tendens til negative WRES over prøvetakingstidspunkt, som kan indikere at modellen har problemer med å estimere disse konsentrasjonene. Det er imidlertid kun én pasient som har bidratt med data fra dette tidspunktet, så skjevheten skyldes nok i større grad pasienten enn prøvetakingstidspunktet. ”Quality of fit”-plottene (figur 6) viser en lav spredning for de individuelt predikerte konsentrasjonene, og en større spredning og tendens til skjevhet for de populasjonspredikerte konsentrasjonene. Manglende evne til å estimere enkelte høye blodkonsentrasjoner, samt spredningen og skjevheten i de populasjonspredikerte konsentrasjonene, kan indikere at flere kovariater må inkluderes i modellen for at den skal fungere optimalt. For å inkludere flere kovariater må flere pasienter inkluderes i datasettet.

## 4.4 Validering

### 4.4.1 Jackknife

Valideringen avdekket både styrker og svakheter ved modellen, men indikerte at modellen ikke var robust og ble påvirket av endringer i datamateriale. Mer arbeid må derfor utføres før modellen kan benyttes klinisk. Metoden Jackknife ble benyttet for å estimere parameterestimatenes konfidensintervall (tabell 9). Metoden bootstrap kan også benyttes for å estimere konfidensintervall. Bootstrap er en mer nøyaktig metode, men krever flere utregninger [46]. Parameterestimatene i den endelige modellen var like eller tilnærmet like gjennomsnitts- og medianverdiene fra Jackknife. Resultatene fra Jackknife indikerte at spesielt pasient 101, og til dels pasient 105 hadde signifikante effekter på parameterestimatene (appendiks 6.9). Gruppen uten pasient 101 hadde utliggende parameterestimer for  $V_1/F$ ,  $Q/F$ ,  $V_2/F$  og  $k_a$  sammenlignet med de øvrige gruppene, mens parameterestimatene for  $k_a$ , ALAG og  $Q_{CYP}/F$  i gruppen uten pasient 105 var utliggende sammenlignet med de øvrige gruppene. Gruppene uten pasientene 103, 105 og 319 hadde verdier for  $CL_{CYP}/F$  som skilte seg fra de øvrige gruppene. Dette er de tre pasientene i datasettet som uttrykker CYP3A5, og forklarer dermed disse pasientenes effekter på  $Q_{CYP}/F$

og  $CL_{CYP/F}$ . Dette indikerer at flere pasienter med minimum ett *CYP3A5\*1*-allel bør inkluderes i datasettet for å øke robustheten av modellen.

#### 4.4.2 Data-splitting

Data-splitting ble gjennomført i henhold til anbefalinger fra FDA [9]. I data-splittingen var det ingen tilfeller der alle de ti undergruppens parameterestimer lå innenfor  $\pm 2$  SE fra den endelige modellens parameterestimer (figur 9). Dette indikerer at modellen ikke er robust. For parametrene  $CL_{CYP/F}$  og  $Q_{CYP/F}$  hadde undergruppene 2, 3 og 7 utliggende verdier fra den endelige modellens parameterestimer, mens de resterende gruppene lå innenfor  $\pm 2$  SE. Dette er gruppene der henholdsvis pasient 103, 105 og 319, som alle uttrykker *CYP3A5*, var blant de ekskluderte pasientene. Det var forventet at de ville ligge utenfor  $\pm 2$  SE og at det ville være en stor spredning i disse undergruppens parameterestimer, da det er få pasienter i datasettet som uttrykker *CYP3A5*. Dette indikerer at flere pasienter med minimum ett *CYP3A5\*1*-allel bør inkluderes i datasettet for å øke modellens robusthet, samt bedre modellens evne til å estimere disse parameterverdiene. For parametrene  $V_1/F$ ,  $Q/F$ ,  $V_2/F$  og  $k_a$  hadde undergruppe 3 utliggende verdier fra den endelige modellens parameterestimer, mens de resterende undergruppene lå nærmere grenseverdiene på  $\pm 2$  SE. Dette indikerer at modellen kan fungere godt, men at enkeltpasienter eller enkeltgrupper i datasettet har store effekter på parameterestimaterne og bidrar til bias. I undergruppe 3 var både pasient 101 og 105 blant de ekskluderte pasientene. Dette kan bekrefte funnene i Jackknife der pasient 101 og til dels pasient 105 så ut til å ha signifikante effekter på parameterestimaterne, men det kan også indikere at de øvrige pasientene i gruppen også hadde signifikante effekter på parameterestimaterne. En annen medvirkende årsak til denne gruppens avvik kan også være den varierende mengden datamateriale i hver undergruppe. I data-splittingen ble gruppeinndelingen gjort helt tilfeldig uten å ta hensyn til hvor mye datamateriale hver pasient bidro med. Dermed ble ulike mengder datamateriale ekskludert fra hver undergruppe, som kan ha bidratt med bias i denne valideringsmetoden. I undergruppe 3 ble totalt fire pasienter ekskludert, der tre av pasientene bidro med to 12-timersprofiler. I de resterende undergruppene har de datarike pasientene blitt jevnere fordelt, så undergruppe 3 er den gruppen som mister mest datamateriale. Dette kan også ha bidratt til gruppe 3 sine store avvik fra den endelige modellens parameterestimer, i tillegg til enkeltpasienters bidrag på parameterestimer.

Ved sammenligning av OFV fra data-splittingen med den endelige modellens OFV, fikk to av gruppene OFV  $\geq 3,84$  fra den endelige modellens OFV (tabell 10), og lå dermed ikke innenfor 95 % konfidensintervallet. Dette indikerer at modellen mangler robusthet. Den ene gruppen med utliggende OFV var undergruppe 3, som gjenspeiler resultatene fra sammenligningen av parameterestimatene ovenfor.

I evalueringen av modellens evne til å predikere blodkonsentrasjoner ble datasettene kjørt med varierende informasjon fra pasientene som ble returnert til datasettene. Valg av tidspunkt var basert på tidligere publiserte farmakokinetiske populasjonsmodeller der modellens prediktive egenskaper har blitt analysert, og fant at blodkonsentrasjoner ved  $t = 0$ , 1 og 3 timer etter doseinntak ga en god prediksjon av blodkonsentrasjoner [31, 33]. Andre kombinasjoner av tidspunkt kunne også gitt gode resultater, men ble ikke undersøkt i denne analysen da det antas at forskjellen ikke ville vært utslagsgivende stor mellom ulike anbefalte kombinasjoner av tre blodkonsentrasjoner, som  $t = 0$ , 1 og 3 og  $t = 0$ , 2 og 3 [28]. ME og RMSE ble estimert da dette er gode mål på prediksjonsevne [50]. I tillegg ble SPE beregnet, som også gir en evaluering av prediksjonsevne [51, 53]. Både ME og RMSE ble som forventet gradvis lavere ved inklusjon av flere blodkonsentrasjoner. I datasettene uten noen blodkonsentrasjoner fra de tidligere ekskluderte pasientene, var ME = 1,14  $\mu\text{g/L}$  og RMSE = 4,58  $\mu\text{g/L}$  (tabell 11). ME indikerte at modellen overpredikerte blodkonsentrasjoner. Verdiene var ikke veldig høye, men indikerer at modellens bias bør reduseres og presisjon bør forbedres. Inklusjon av flere datapunkter ga som forventet en gradvis forbedring av ME og RMSE. For datasettet uten noen blodkonsentrasjoner fra de tidligere ekskluderte pasientene var gjennomsnittlig SPE (0,032) ikke signifikant forskjellig fra 0, konfidensintervallet inneholdt 0, og standardavviket til SPE (0,953) var nærme 1 (tabell 11). Dette indikerer gode prediksjonsegenskaper. Dette vedvarte ved inklusjon av flere datapunkter, med unntak av at standardavviket ble lavere. De lavere standardavvikene indikerer at modellen vil ha en tendens til å overestimere den sanne variasjonen ved inklusjon av flere datapunkter, slik at den reelle faren for over- eller underdosering vil være lavere enn det modellen estimerer [51]. Dette bør forbedres ved videre arbeid med modellen.



## 4.5 Den reduserte modellen

Modellen viste lav robusthet i valideringene, og spesielt pasient 101 indikerte å ha store effekter på parameterestimatene i Jackknife og data-splittingen. Denne pasienten var én av tre pasienter i datasettet med data innhentet i løpet av de første tre månedene etter transplantasjon. Det ble besluttet å ekskludere pasientene 101, 102 og 104 fra datasettet for å undersøke om tid etter transplantasjon var årsaken til modellens svakheter. Pasient 104 var også en av pasientene som ble ekskludert fra undergruppe 3 i data-splittingen, og kan ha bidratt til gruppens store avvik. Ved å ekskludere disse tre pasientene fra datasettet, ville det være mulig å identifisere om tid etter transplantasjon var årsaken til modellens lave robusthet.

Det ble tatt utgangspunkt i en 2-kompartimentmodell med lag-tid i absorpsjonsfasen og en kombinert proporsjonell og additiv residual variasjon. Parameterestimatene og den residuale variasjonen til den reduserte 2-kompartimentmodellen (tabell 13) endret seg ikke i stor grad fra den fulle modellens parameterestimer (tabell 5), men den reduserte modellen var mindre stabil for initielle thetaestimer enn den fulle modellen. Kovariatanalyse og validering ble gjennomført på samme måte som for den fulle modellen.

Kovariatanalysen viste at *CYP3A5*-genotype, vekt og ASAT var faktorer som påvirket farmakokinetikken til takrolimus i pasientene. *CYP3A5*-genotype hadde en signifikant effekt på CL/F i samme forhold som i den fulle modellen, men ikke på Q/F. Økende vekt ga en økende lag-tid med ligningen som først ble signifikant i den fulle modellen, men senere ble erstattet grunnet ustabilitet. Kovariatenes effekt på CL/F og lag-tid bekrefter funnene gjort i kovariatanalysen for den fulle modellen, mens fraværet av kovariaten  $Q_{CYP}/F$  kan indikere at denne kovariaten ikke vil forbli signifikant ved videre arbeid med modellen. ASAT hadde en signifikant effekt på clearance, der clearance ble redusert med økende ASAT-verdier. Dette er vist i én tidligere publisert studie [25] og kan forklares ved at økende ASAT-verdier kan indikere nedsatt leverfunksjon og dermed nedsatt metabolisme av takrolimus i lever.

Eksklusjonstrinnene i kovariatanalysen var vanskeligere å gjennomføre enn for den fulle modellen, for eksempel kunne ikke modellen kjøres med kovariaten albumin på lag-tid. Denne kovariaten ble dermed inkludert etter endt analyse for å undersøke om den ga en signifikant bedring eller forverring av modellen. Modellen kunne ikke kjøre uten kovariaten

ASAT på  $k_a$ , som da ble beholdt i modellen til den kunne ekskluderes. Disse faktorene kan ha ført til bias i eksklusjonstrinnene. I tillegg kan dette tyde på at modellen ble mindre robust etter eksklusjonen av de tre pasientene.

Etter inklusjon av kovariater ble OFV og den additive residuale variasjonen redusert, mens den proporsjonelle residuale variasjonen var tilnærmet uendret (tabell 13). Interindividuell variasjon ble redusert for  $CL/F$ ,  $V_2/F$ , og  $k_a$ . Parameterestimaterne endret seg i liten grad etter inklusjon av kovariater i modellen, og var i samme områder som parameterestimaterne til den fulle modellen med kovariater (tabell 8). Modellens evne til å estimere individuelt predikerte konsentrasjoner var god både før og etter inklusjon av kovariatene (figur 10), mens estimeringen av populasjonspredikerte konsentrasjoner ble forbedret etter inklusjon av kovariatene (figur 11). Ved sammenligning med den fulle modellen fremgår det at evnen til å estimere de populasjonspredikerte konsentrasjonene ble dårligere ved eksklusjon av de tre pasientene fra datasettet (figur 4, figur 5, figur 12). Konsentrasjon/tid-kurvene (figur 13), "quality of fit"-plottene (figur 14) og de andre WRES-plottene (figur 12) viste i stor grad tilsvarende styrker og svakheter som den fulle modellen. Den reduserte modellen hadde fortsatt en lavere stabilitet for initielle thetaestimerer enn den fulle modellen.

Også den reduserte modellen viste lav robusthet i valideringen. Resultatene fra Jackknife indikerte ikke at enkeltpasienter hadde signifikante effekter på parameterestimaterne. I data-splittingen var det ingen tilfeller der alle undergruppens parameterestimerer lå innenfor  $\pm 2$  SE fra den endelige reduserte modellens parameterestimerer. Undergruppe 10 hadde for enkelte parametre en tendens til utliggende verdier, men effekten var ikke like uttalt som observert for gruppe 3 den fulle modellen (figur 15). Også for det reduserte datasettet lå to av undergruppens OFV utenfor konfidensintervallet til den endelige reduserte modellens OFV. Evalueringen av modellens prediktive egenskaper viste i stor grad lignende trender som den fulle modellen, men inklusjon av flere datapunkter ga i enkelte tilfeller gjennomsnittlig SPE som var signifikant forskjellig fra 0 ( $p < 0,05$ ).

Eksklusjon av de tre pasientene ga en modell med mindre bias fra enkeltpasienter, men modellen ble ikke forbedret i noen større grad. Årsaker til dette kan være at tid etter transplantasjon ikke var årsaken til at pasient 101 var en utligger, eller at modellen etter eksklusjon av tre pasienter ikke hadde nok data for å bygge en stabil modell. Ved eksklusjon av kun pasient 101 ville modellen tapt mindre datamateriale og kunne hatt en større mulighet

til å bli robust, men ekskludering av denne ene pasienten ville ikke gitt et svar på årsaken til at pasient 101 var en utligger. Som et alternativ til å ekskludere pasienter fra datasettet, kunne kovariaten tid etter transplantasjon vært undersøkt som en binomisk kovariat ved å samle pasientene 101, 102 og 104 i en egen gruppe. Dette kunne hatt en annen effekt enn å analysere txt som en kontinuerlig kovariat, og kunne muligens demonstrert at tid etter transplantasjon var årsaken til de utliggende verdiene til pasient 101 uten å svekke datasettet. Tre pasienter gir imidlertid lite materiale å basere en kovariateffekt på. Det er usikkert om en binomisk inndeling ville gitt resultater, og om det ville ført til en forbedring av modellen.

Den fulle modellenes lave robusthet kan ha hatt flere årsaker enn kun enkeltpasienters effekter på parameterestimaterne. Det lave antallet pasienter i datasettet øker blant annet sjansen for over- og underestimering av forskjellige kovariaters kliniske effekter. Da verken effekten av *CYP3A5*\*1/\*3 på Q/F eller effekten av vekt på lag-tid er vist i tidligere publiserte studier, kan dette indikere at den kliniske relevansen av disse kovariatene ha vært overestimert i modellen. I så fall kan disse kovariatene ha bidratt med bias. ASAT ble en signifikant kovariat i den reduserte modellen, men ikke i den fulle modellen. Kovariatens relevans kan ha blitt overestimert i den reduserte modellen, og kan ha bidratt til bias.

I flere tidligere publiserte studier har 1-kompartimentmodeller gitt en god beskrivelse av farmakokinetikken til takrolimus i nyretransplanterte pasienter, men i disse studiene er kun  $C_0$ -konsentrasjoner benyttet. 1-kompartimentmodeller klarte å beskrive pasientenes blodkonsentrasjoner i denne analysen, men på en mindre tilfredsstillende måte enn 2-kompartimentmodellene (figur 2). Dersom videre arbeid hadde blitt utført med en 1-kompartimentmodell, er det mulig at valideringen hadde indikert god robusthet, da en mindre komplisert modell ofte krever mindre data. En 1-kompartimentmodell ville imidlertid ikke kunne gitt en tilstrekkelig god beskrivelse av absorpsjons- eller distribusjonsfasene av farmakokinetikken til takrolimus.

## 4.6 Videre arbeid med modellen

Den endelige modellen med kovariater viste svakheter, men er et godt utgangspunkt for det videre arbeidet med utvikling av en populasjonsmodell for takrolimus i nyretransplanterte pasienter. Mer arbeid med en 2-kompartimentmodell med Erlang-distribusjon kan også

utføres, da Erlang-modellen ga en god beskrivelse av farmakokinetikken til takrolimus i pasientene i dette datasettet. Erlang-modellene hadde også en litt bedre evne til å estimere enkelte av de høyeste blodkonsentrasjonene, som var et problem for den endelige modellen i denne analysen. Det er imidlertid ikke mulig å forutsi hvilken av basismodellene som etter endt modellutvikling vil være best egnet til å beskrive farmakokinetikken til takrolimus i nyretransplanterte pasienter. Dette vil blant annet påvirkes av pasientmaterialet som benyttes i modelleringen. Et problem med Erlang-modeller er kjøretiden. Et mer omfattende datasett og inklusjon av kovariater kan føre til at en slik modell i enkelte tilfeller kan få en for lang kjøretid til at det vil være aktuelt å benytte den klinisk.

Flere pasienter med større heterogenitet må inkluderes i datasettet for å bedre modellens robusthet, for å få et representativt utvalg av pasientpopulasjonen, og med hensyn til reevaluering av kovariatene, samt inklusjon av flere kovariater. Ved reanalyse av kovariatene kan også andre ligninger og flere kovariater undersøkes. Spesielt pasienter med data hentet inn kort tid etter transplantasjon og pasienter med minimum ett *CYP3A5*\*1-allel bør inkluderes i pasientmaterialet. Ved videre arbeid og klinisk bruk av modellen kan pasienter med *CYP3A5*\*1/\*1 og \*1/\*3 kodes likt ( $CYP = 0$ ), da det ikke er vist store forskjeller mellom disse pasientene [20, 29, 30]. Alle pasientene i dette datasettet var hentet fra kliniske studier. Inklusjon av rutinedata i datasettet kan styrke modellen, da utelukkende bruk av pasientdata fra kliniske studier kan gi et skjevt bilde av pasientpopulasjonen grunnet strenge inklusjons- og eksklusjonskriterier. Et problem er imidlertid at *CYP3A5*-genotyping vanligvis ikke utføres på rutinedata. Dette gjør det utfordrende å skaffe data fra pasienter som ikke har vært involvert i kliniske studier.

Etter reanalyse av kovariater må en modell med et mer omfattende datasett valideres både internt og eksternt før det kan være aktuelt å benytte modellen klinisk. I dag er *CYP3A5*-genotyping ikke vanlig i rutinekontroller, så til tross for at en modell med *CYP3A5*-genotype som kovariat gir den beste modellen for å uttrykke og predikere takrolimuskonsentrasjoner i nyretransplanterte pasienter, er det ikke gitt at det vil være aktuelt å benytte en slik modell i rutinekontroller. Det må da vurderes å utvikle en modell uten denne kovariaten. Flere tidligere publiserte studier har vist at *CYP3A5*-genotype er en viktig årsak til interindividuelle variasjoner i farmakokinetikken til takrolimus [20, 28-30, 33]. Dette indikerer at det kan være aktuelt å innføre *CYP3A5*-genotyping i klinikken.

---

En farmakokinetisk populasjonsmodell for takrolimus i nyretransplanterte pasienter vil være et nyttig verktøy for å identifisere årsaker til farmakokinetiske intra- og interindividuelle variasjoner i farmakokinetikken til takrolimus, og kan bidra til en bedre prediksjon av blodkonsentrasjoner ved bayesiansk estimering. Nytteten vil være minimal for de pasientene der blodkonsentrasjonene ligger innenfor det anbefalte intervallet og lett kan justeres med doseendringer dersom pasienten viser tegn til over- eller underbehandling. Derimot vil en populasjonsmodell være spesielt nyttig for pasienter som skal starte med takrolimusbehandling, slik at de raskere oppnår optimal behandling. En populasjonsmodell vil også være nyttig for de pasientene med blodkonsentrasjoner som er vanskelige å regulere, eller for pasientene som blir over- eller underbehandlet til tross for at konsentrasjonene ligger innenfor det anbefalte intervallet.

## 5. Konklusjon

Ved å benytte NONMEM ble en farmakokinetisk populasjonsmodell for takrolimus (Prograf®) utviklet for nyretransplanterte pasienter.

En 2-kompartimentmodell med lag-tid i absorpsjonsfasen ga en god beskrivelse av farmakokinetikken til takrolimus. Interindividuell variasjon ble uttrykt med eksponentielle modeller, og residual variasjon ble uttrykt med en kombinert proporsjonell og additiv modell. Kovariatanalysen viste at *CYP3A5*-genotype og vekt påvirket farmakokinetikken til takrolimus i pasientene. Inklusjon av kovariatene ga en forbedring av modellen, men modellen klarte ikke å redegjøre for alle de intra- og interindividuelle variasjonene.

Valideringen av modellen viste at enkeltpasienter i stor grad påvirket parameterestimatene, og at modellen manglet robusthet og presisjon. En hypotese var at dette i stor grad skyldtes en pasient som nylig hadde blitt transplantert da data ble samlet inn. Eksklusjon av de tre pasientene med data fra de første tre månedene etter transplantasjon ville kunne gi svar på om tid etter transplantasjon var årsaken til den ene pasientens effekt på parameterestimatene, og svakhetene som ble avdekket i valideringen. Den reduserte modellen ga imidlertid ingen forbedring av valideringen, med unntak av at enkeltpasienters effekter på parameterestimatene ble redusert. Dette kan bety at tid etter transplantasjon ikke var årsaken til modellens svakheter i valideringen, eller at datasettet ble for redusert til å gi en stabil modell.

Det er et behov for videre arbeid med modellen. Flere pasienter med større heterogenitet må inkluderes i datasettet for å utvikle en robust og presis modell med lite bias. Videre må kovariater analyseres for å bekrefte funnene i denne analysen, samt for å avdekke flere kovariater som redegjør for intra- og interindividuell variasjon. Modellen må deretter valideres med både interne og eksterne valideringsmetoder.

En god modell vil kunne være et verdifullt verktøy for å bedre forståelsen av forholdet mellom dose og effekt, og kan bidra til å bedre individualiseringen av takrolimusdoseringen, og dermed redusere risikoen for over- og underbehandling.

## Kildeliste

1. Helms, R.A., et al., *Textbook of Therapeutics - Drug and Disease Management*. 8th ed. 2006, Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins.
2. *Norsk Legemiddelhåndbok for helsepersonell 2010*. 2010, Bergen: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS.
3. Whiting, B., A.W. Kelman, and J. Grevel, *Population pharmacokinetics. Theory and clinical application*. Clinical Pharmacokinetics, 1986. **11**(5): p. 387-401.
4. Ette, E.I. and P.J. Williams, *Population pharmacokinetics I: background, concepts, and models*. Annals of Pharmacotherapy, 2004. **38**(10): p. 1702-6.
5. Aarons, L., *Population pharmacokinetics: theory and practice*. British Journal of Clinical Pharmacology, 1991. **32**(6): p. 669-70.
6. Duan, J.Z., *Applications of population pharmacokinetics in current drug labelling*. Journal of Clinical Pharmacy & Therapeutics, 2007. **32**(1): p. 57-79.
7. Sun, H., et al., *Population pharmacokinetics. A regulatory perspective*. Clinical Pharmacokinetics, 1999. **37**(1): p. 41-58.
8. Sheiner, L.B. and T.M. Ludden, *Population pharmacokinetics/dynamics*. Annual Review of Pharmacology & Toxicology, 1992. **32**: p. 185-209.
9. FDA. *Guidance for industry on population pharmacokinetics*. [U.S. Department of Health and Human Services: Food and Drug Administration] 1999 [cited 2011 5. januar]; Available from: <http://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/SpecialTopics/WomensHealthResearch/UCM133184.pdf>.
10. Yuh, L., et al., *Population pharmacokinetic/pharmacodynamic methodology and applications: a bibliography*. Biometrics, 1994. **50**(2): p. 566-75.
11. Willis, C., C.E. Staats, and S.E. Tett, *Bayesian forecasting and prediction of tacrolimus concentrations in pediatric liver and adult renal transplant recipients*. Therapeutic Drug Monitoring, 2003. **25**(2): p. 158-66.
12. Ette, E.I. and P.J. Williams, *Population pharmacokinetics II: estimation methods*. Annals of Pharmacotherapy, 2004. **38**(11): p. 1907-15.
13. Jelliffe, R., A. Schumitzky, and M. Van Guilder, *Population pharmacokinetics/pharmacodynamics modeling: parametric and nonparametric methods*. Therapeutic Drug Monitoring, 2000. **22**(3): p. 354-65.
14. Jelliffe, R.W., et al., *Individualizing drug dosage regimens: roles of population pharmacokinetic and dynamic models, Bayesian fitting, and adaptive control*. Therapeutic Drug Monitoring, 1993. **15**(5): p. 380-93.
15. Beal, S.L. and L.B. Sheiner, *NONMEM users guide*. 1989-2006, Icon Development Solutions: Elliott City, MD.
16. Shafer, S.L., *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis with NONMEM - Basic Concepts*. 2005: January 28-30th, Holiday Inn, Princeton New Jersey, USA.
17. Wahlby, U., E.N. Jonsson, and M.O. Karlsson, *Comparison of stepwise covariate model building strategies in population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis*. Aaps Pharmsci, 2002. **4**(4): p. E27.
18. Coto, E. and B. Tavora, *Pharmacogenetics of calcineurin inhibitors in renal transplantation*. Transplantation, 2009. **88**(3 Suppl): p. S62-7.
19. Vicari-Christensen, M., et al., *Tacrolimus: review of pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics to facilitate practitioners' understanding*

- and offer strategies for educating patients and promoting adherence. *Progress in Transplantation*, 2009. **19**(3): p. 277-84.
20. Staatz, C.E., L.K. Goodman, and S.E. Tett, *Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I*. *Clinical Pharmacokinetics*, 2010. **49**(3): p. 141-75.
  21. AstellasPharma. *Preparatomtale Prograf 0,5 mg, 1 mg, 5 mg kapsler, harde*. [Statens legemiddelverk] 1997-2011 [cited 2011 22. april]; Available from: [http://legemiddelverket.no/custom/Preparatsok/prepSearch\\_80333.aspx?SearchID=24a884cf-5b13-43ef-a01f-43765b648949](http://legemiddelverket.no/custom/Preparatsok/prepSearch_80333.aspx?SearchID=24a884cf-5b13-43ef-a01f-43765b648949).
  22. Staatz, C.E. and S.E. Tett, *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation*. *Clinical Pharmacokinetics*, 2004. **43**(10): p. 623-53.
  23. van Gelder, T. and D.A. Hesselink, *Dosing tacrolimus based on CYP3A5 genotype: will it improve clinical outcome?* *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2010. **87**(6): p. 640-1.
  24. Katsakiori, P.F., et al., *Factors affecting the long-term response to tacrolimus in renal transplant patients: pharmacokinetic and pharmacogenetic approach*. *International Journal of Medical Sciences*, 2010. **7**(2): p. 94-100.
  25. Staatz, C.E., et al., *Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant recipients*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2002. **72**(6): p. 660-9.
  26. AstellasPharma. *Preparatomtale for Advagraf 1 mg depotkapsler, harde*. [Statens legemiddelverk] 2007-2009 [cited 2011 29. april]; Available from: [http://legemiddelverket.no/custom/Preparatsok/prepSearch\\_80333.aspx?SearchID=c05d922a-eb5d-463f-b89a-66e418435afe](http://legemiddelverket.no/custom/Preparatsok/prepSearch_80333.aspx?SearchID=c05d922a-eb5d-463f-b89a-66e418435afe).
  27. Antignac, M., et al., *Population pharmacokinetics and bioavailability of tacrolimus in kidney transplant patients*. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2007. **64**(6): p. 750-7.
  28. Press, R.R., et al., *Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimize early exposure in adult kidney transplant recipients*. *Therapeutic Drug Monitoring*, 2009. **31**(2): p. 187-97.
  29. Musuamba, F.T., et al., *Time of drug administration, CYP3A5 and ABCB1 genotypes, and analytical method influence tacrolimus pharmacokinetics: a population pharmacokinetic study*. *Therapeutic Drug Monitoring*, 2009. **31**(6): p. 734-42.
  30. Zhao, W., et al., *Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in de novo pediatric kidney transplant recipients*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2009. **86**(6): p. 609-18.
  31. Benkali, K., et al., *Tacrolimus population pharmacokinetic-pharmacogenetic analysis and Bayesian estimation in renal transplant recipients*. *Clinical Pharmacokinetics*, 2009. **48**(12): p. 805-16.
  32. Velickovic-Radovanovic, R., et al., *Population pharmacokinetics of tacrolimus in kidney transplant patients*. *International Journal of Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2010. **48**(6): p. 375-82.
  33. Woillard, J.B., et al., *Population pharmacokinetic model and Bayesian estimator for two tacrolimus formulations - twice daily Prograf((R)) and once daily Advagraf((R))*. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2011. **71**(3): p. 391-402.
  34. Scholten, E.M., et al., *AUC-guided dosing of tacrolimus prevents progressive systemic overexposure in renal transplant recipients*. *Kidney International*, 2005. **67**(6): p. 2440-2447.



35. Falck, P., et al., *Cinacalcet's effect on the pharmacokinetics of tacrolimus, cyclosporine and mycophenolate in renal transplant recipients*. Nephrology Dialysis Transplantation, 2008. **23**(3): p. 1048-53.
36. Amundsen, R., et al., *Rimonabant affects cyclosporine a, but not tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients*. Transplantation, 2009. **87**(8): p. 1221-4.
37. Midtvedt, K., et al., *No change in insulin sensitivity in renal transplant recipients converted from standard to once-daily prolonged release tacrolimus*. Nephrology Dialysis Transplantation, 2011.
38. Urien, S., *Rfn, R for NONMEM: A graphical interface for NONMEM outputs*. 2005.
39. Matis, J.H. and T.E. Wehrly, *Generalized stochastic compartmental models with Erlang transit times*. Journal of Pharmacokinetics & Biopharmaceutics, 1990. **18**(6): p. 589-607.
40. Rousseau, A., et al., *Population pharmacokinetic modeling of oral cyclosporin using NONMEM - Comparison of absorption pharmacokinetic models and design of a Bayesian estimator*. Therapeutic Drug Monitoring, 2004. **26**(1): p. 23-30.
41. Krejcie, T.C., et al., *Use of parallel Erlang density functions to analyze first-pass pulmonary uptake of multiple indicators in dogs*. Journal of Pharmacokinetics & Biopharmaceutics, 1996. **24**(6): p. 569-88.
42. Saint-Marcoux, F., et al., *Patient characteristics influencing ciclosporin pharmacokinetics and accurate Bayesian estimation of ciclosporin exposure in heart, lung and kidney transplant patients*. Clinical Pharmacokinetics, 2006. **45**(9): p. 905-22.
43. Narwal, R., et al., *Development of a population pharmacokinetic model for atorvastatin acid and its lactone metabolite*. Clinical Pharmacokinetics, 2010. **49**(10): p. 693-702.
44. Jonsson, E.N. and M.O. Karlsson, *Automated covariate model building within NONMEM*. Pharmaceutical Research, 1998. **15**(9): p. 1463-8.
45. Ishibashi, T., Y. Yano, and T. Oguma, *Population pharmacokinetics of platinum after nedaplatin administration and model validation in adult patients*. British Journal of Clinical Pharmacology, 2003. **56**(2): p. 205-13.
46. Efron, B. and G. Gong, *A leisurely look at the bootstrap, the jackknife, and cross-validation*. American Statistician, 1983. **37**(1): p. 36-48.
47. Ralph, L.D., et al., *Assessment of the validity of a population pharmacokinetic model for epirubicin*. British Journal of Clinical Pharmacology, 2006. **62**(1): p. 47-55.
48. Haahr, M. *Random.org*. 1998-2011 [cited 2011 17. februar]; Available from: <http://www.random.org/>.
49. Wu, K.-H., et al., *Population pharmacokinetics of cyclosporine in clinical renal transplant patients*. Drug Metabolism & Disposition, 2005. **33**(9): p. 1268-75.
50. Sheiner, L.B. and S.L. Beal, *Some suggestions for measuring predictive performance*. Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, 1981. **9**(4): p. 503-512.
51. Serrano, B.B., et al., *Valproate population pharmacokinetics in children*. Journal of Clinical Pharmacy & Therapeutics, 1999. **24**(1): p. 73-80.
52. Storehagen, L., *Ciclosporin A - Development of a pharmacokinetic population model, in Farmasøytisk instisutt*. 2007, Universitetet i Oslo: Oslo.
53. Van, L.T.T., *A pharmacokinetic population model for Cyclosporin A in renal transplant recipients, in Farmasøytisk institutt*. 2008, Universitetet i Oslo: Oslo.
54. Moore, D.S. and G.P. McCabe, *Introduction to the practice of statistics*. 1. ed. 2006, USA: W. H. Freeman and Company.

- 
55. Staatz, C.E., L.K. Goodman, and S.E. Tett, *Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II*. Clinical Pharmacokinetics, 2010. **49**(4): p. 207-21.

## 6. Appendiks

### 6.1 Detaljert oversikt over pasientkarakteristika

Pasient	Dag	Kjønn	Alder	Vekt	Txt (dager)	Txt (år)	TAC morgen	TAC kveld	Pred	Hct	Alb	ASAT	CYP 3A5
Cinacalcet-studien													
101	0	M	61	104,3	25	0,07	4,0	4,0	20	29	36	47	*3/*3
	7		61	99,4	31	0,08	4,0	4,0	15	29	36	23	
102	0	M	52	76,6	55	0,15	2,0	2,0	25	30	38	20	*3/*3
	7		52	78,3	61	0,17	2,0	2,0	25	26	39	21	
103	0	M	32	79,2	104	0,28	5,0	5,0	20	35	44	23	*1/*3
	7		32	80,0	110	0,30	5,0	5,0	20	34	44	21	
104	0	M	63	70,2	59	0,16	7,0	7,0	15	32	42	17	*3/*3
	7		63	72,2	66	0,18	7,0	7,0	15	31	43	20	
105	0	M	55	84,0	4501	12,33	5,0	5,0	5	35	41	25	*1/*3
	7		55	84,0	4516	12,37	5,0	5,0	5	38	40	22	
106	0	M	75	80,0	2960	8,11	2,0	2,0	5	42	42	26	*3/*3
	7		75	80,0	2975	8,15	2,0	2,0	5	38	39	24	
Rimonabant-studien													
203	0	K	35	66,7	1808	4,95	2,5	2,5	5	33	41	16	*3/*3
	56		36	65,0	1863	5,10	2,5	2,5	5	33	40	18	
206	0	M	56	86,0	4823	13,21	5,0	5,0	5	41	41	26	*3/*3
	56		56	86,3	4876	13,36	5,0	5,0	5	41	43	22	
209	0	K	61	88,7	4399	12,05	2,0	2,0	5	42	40	18	*3/*3
	56		61	88,4	4454	12,20	2,0	2,0	5	44	44	21	
210	0	K	39	95,5	599	1,64	2,5	2,5	7,5	42	42	29	*3/*3
	56		39	90,0	654	1,79	2,5	2,5	6,25	43	44	25	
214	0	M	63	130,5	921	2,52	2,0	2,0	5	58	46	27	*3/*3
	56		63	130,6	977	2,68	2,0	2,0	5	54	43	31	
216	0	M	42	130,0	3595	9,85	3,0	3,0	5	38	49	24	*3/*3
	56		42	124,7	3651	10,00	3,0	3,0	5	38	48	21	
219	0	M	34	96,2	2505	6,86	4,0	4,0	0	44	47	23	*3/*3
	56		34	95,2	2561	7,02	4,0	4,5	0	43	43	24	
220	0	K	53	85,8	320	0,88	1,5	1,0	5	42	44	23	*3/*3
	56		53	85,2	355	0,97	1,5	1,5	5	40	44	17	

## Pasientkarakteristika forts.

Pasient	Dag	Kjønn	Alder	Vekt	Txt (dager)	Txt (år)	TAC morgen	TAC kveld	Pred	Hct	Alb	ASAT	CYP 3A5
<i>Advagraf-studien</i>													
301		K	38	68,0	2552	6,99	3,0	2,0	5	32	38	15	*3/*3
302		M	48	64,0	1778	4,87	2,0	2,0	2,5	38	45	31	*3/*3
303		M	39	86,0	5697	15,61	2,0	2,0	5	40	47	21	*3/*3
304		M	42	91,0	276	0,76	1,5	1,5	5	40	43	19	*3/*3
305		K	32	69,0	2004	5,49	2,0	2,0	5	41	40	16	*3/*3
306		M	58	96,0	788	2,16	1,5	1,5	5	43	45	30	*3/*3
307		M	47	76,5	524	1,44	1,0	1,0	5	39	42	18	*3/*3
308		K	45	52,0	2559	7,01	2,0	2,0	5	36	42	23	*3/*3
309		M	37	77,0	1621	4,44	1,0	0,5	5	47	45	50	*3/*3
310		M	47	100,0	992	2,72	2,0	1,5	5	42	44	26	*3/*3
311		M	78	80,0	4118	11,28	2,0	1,5	5	36	41	22	*3/*3
312		M	58	78,0	994	2,72	2,0	2,0	5	41	38	25	*3/*3
313		M	34	55,0	3186	8,73	3,0	3,0	5	41	40	22	*3/*3
314		M	74	73,0	2599	7,12	2,0	1,5	5	39	38	14	*3/*3
315		K	26	51,0	814	2,23	1,0	1,0	5	39	41	12	*3/*3
316		M	39	89,0	2156	5,91	2,0	2,0	5	43	42	18	*3/*3
317		M	39	71,0	1669	4,57	1,0	1,0	5	36	44	19	*3/*3
318		M	36	96,0	540	1,48	2,0	2,0	5	37	45	24	*3/*3
319		M	31	88,0	213	0,58	6,0	6,0	5	39	46	19	*1/*3
320		K	28	58,4	2160	5,92	2,0	2,0	5	35	38	25	*3/*3

M = mann; K = kvinne; Alder (år); Kroppsvekt (kg); Txt = tid etter transplantasjon; TAC morgen = morgendose takrolimus (mg); TAC kveld = kveldsdose takrolimus (mg); Pred = døgndose prednisolon (mg); Hct = Hematokrit i blod(%); Alb = Albumin i plasma(g/L); ASAT i plasma(U/L); CYP3A5 = genotype

## 6.2 Deler av inputfil

#ID	AMT	RATE	DAT1=DROP	TIME	C=DV	WT	MDV	SS	II	CMT	AGE	TXT	STER	CYP	HCT	ALB	ASAT
220	1500	0	11.03.2008	8	0,0	85,8	1	1	24	1	53	319	5	1	42	44	23
220	0	0	11.03.2008	10	0,0	85,8	1	0	0	2	53	319	5	1	42	44	23
220	1000	0	11.03.2008	23	0,0	85,8	1	2	24	1	53	319	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	8,27	5,8	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	1500	0	12.03.2008	8,35	0,0	85,8	1	0	0	1	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	8,60	5,6	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	8,85	6,5	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	9,35	9,4	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	9,85	9,1	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	10,37	8,8	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	11,50	8,1	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	12,35	7,4	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	14,35	7,2	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	16,47	6,6	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	18,67	5,8	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	0	0	12.03.2008	19,98	5,5	85,8	0	0	0	2	53	320	5	1	42	44	23
220	1500	0	16.04.2008	20,50	0,0	85,2	1	2	12	1	53	354	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	8,13	3,6	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	1500	0	17.04.2008	8,23	0,0	85,2	1	0	0	1	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	8,48	3,6	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	8,75	5,9	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	9,25	7,3	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	9,75	7,1	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	10,23	6,4	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	11,25	6,2	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	12,25	6,8	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	14,23	4,8	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	16,20	4,8	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	18,23	3,9	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17
220	0	0	17.04.2008	20,05	4,1	85,2	0	0	0	2	53	355	5	1	40	44	17



#ID	AMT	RATE	DAT1=DROP	TIME	C=DV	WT	MDV	SS	II	CMT	AGE	TXT	STER	CYP	HCT	ALB	ASAT
318	2000	0	21.03.2010	8,00	0,00	96	1	2	12	1	36	538	5	1	37	45	24
318	0	0	21.03.2010	10,00	0,00	96	1	0	0	2	36	538	5	1	37	45	24
318	2000	0	21.03.2010	20,00	0,00	96	1	0	0	1	36	538	5	1	37	45	24
318	0	0	21.03.2010	22,00	0,00	96	1	0	0	2	36	538	5	1	37	45	24
318	2000	0	22.03.2010	14,00	0,00	96	1	0	0	1	36	539	5	1	37	45	24
318	0	0	23.03.2010	8,12	4,12	96	0	0	0	2	36	540	5	1	37	45	24
318	2000	0	23.03.2010	8,12	0,00	96	1	0	0	1	36	540	5	1	37	45	24
318	0	0	23.03.2010	8,37	4,04	96	0	0	0	2	36	540	5	1	37	45	24
318	0	0	23.03.2010	8,62	6,29	96	0	0	0	2	36	540	5	1	37	45	24
318	0	0	23.03.2010	9,12	9,18	96	0	0	0	2	36	540	5	1	37	45	24
318	0	0	23.03.2010	9,62	13,99	96	0	0	0	2	36	540	5	1	37	45	24
318	0	0	23.03.2010	10,12	10,54	96	0	0	0	2	36	540	5	1	37	45	24
318	0	0	23.03.2010	11,12	12,39	96	0	0	0	2	36	540	5	1	37	45	24
318	0	0	23.03.2010	12,25	10,22	96	0	0	0	2	36	540	5	1	37	45	24
318	2000	0	23.03.2010	20,00	0,00	96	1	0	0	1	36	540	5	1	37	45	24
318	0	0	24.03.2010	10,33	5,65	96	0	0	0	2	36	541	5	1	37	45	24
319	6000	0	19.04.2010	20	0,00	88	1	2	12	1	31	212	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	8,1	5,40	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	6000	0	20.04.2010	8,1	0,00	88	1	0	0	1	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	8,35	5,81	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	8,6	5,48	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	9,1	6,61	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	9,6	17,85	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	10,1	12,63	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	11,1	8,13	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	12	6,85	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	13	5,32	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	20.04.2010	13,92	4,84	88	0	0	0	2	31	213	5	0	39	46	19
319	6000	0	20.04.2010	20	0,00	88	1	0	0	1	31	213	5	0	39	46	19
319	0	0	21.04.2010	8,33	4,44	88	0	0	0	2	31	214	5	0	39	46	19
319	0	0	21.04.2010	9,33	4,28	88	0	0	0	2	31	214	5	0	39	46	19

### 6.3 Kontrollfil for 1-kompartimentmodellen uten lag-tid

```

$PROBLEM Takrolimusmodellering "1-compartment modell"

$DATA Input_takrodata.txt

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER GEN HCT
ALB ASAT

$SUBROUTINE ADVAN2

$PK
  TVCL=THETA(1)

  TVV1=THETA(2)

  TVKA=THETA(3)

  CL=TVCL*EXP(ETA(1))      ;Clearance (CL/F) L/hr
  V1=TVV1*EXP(ETA(2))      ;Central volume (V1/F), L
  KA=TVKA*EXP(ETA(3))      ;Absorption rate constant, 1/hr

  S2=V1

  K=CL/V1

$ERROR
  IPRED=F
  Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)

$THETA (1,19.4)    ;THETA(1) is POPCL/F
$THETA (1,203)    ;THETA(2) is POPV1/F
$THETA (.1,1.089)  ;THETA(5) is POPKA

$OMEGA
0.2    ;BSVCL/F
0.2    ;BSVV1/F
0.1    ;BSVKA

$SIGMA 0.2    ;ERRCV, Proportional error (%)
$SIGMA 10    ;ERRSD, Additive error (ug/l)

$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT

$TABLE ID TIME DV IPRED MDV
NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt

$TABLE ID CL V1 KA ETA1 ETA2 ETA3 WT AGE TXT STER GEN HCT ALB ASAT
FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt

```

## 6.4 Kontrollfil for 2-kompartimentmodellen med lag-tid

```

$PROBLEM Takrolimusmodellering

$DATA Input_takrodata.txt

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER CYP HCT ALB
ASAT

$SUBROUTINE ADVAN4

$PK
  TVCL=THETA(1)

  TVV1=THETA(2)

  TVQ=THETA(3)

  TVV2=THETA(4)

  TVKA=THETA(5)

  TVALAG=THETA(6)

  CL=TVCL*EXP(ETA(1))      ;Clearance (CL/F) L/hr
  V1=TVV1*EXP(ETA(2))     ;Central volume (V1/F), L
  Q=TVQ*EXP(ETA(3))       ;Intercompartmental clearance (Q/F)
  V2=TVV2*EXP(ETA(4))     ;Peripheral volume (V2/F), L
  KA=TVKA*EXP(ETA(5))     ;Absorption rate constant, 1/hr
  ALAG1=TVALAG*EXP(ETA(6)) ;Absorption lag time, hr

  S2=V1

  K=CL/V1
  K23=Q/V1
  K32=Q/V2

$ERROR
  IPRED=F
  Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)

$THETA (1,23.7)    ;THETA(1) is POPCL/F
$THETA (1,60.4)    ;THETA(2) is POPV1/F
$THETA (1,51.2)    ;THETA(3) is POPQ/F
$THETA (1,743)     ;THETA(4) is POPV2/F
$THETA (0.1,0.623) ;THETA(5) is POPKA
$THETA (0.1,0.425) ;THETA(6) is POPLAGTIME

$OMEGA
0.2 ;BSVCL/F
0.2 ;BSVV1/F
0.2 ;BSVQ/F
0.2 ;BSVV2/F
0.1 ;BSVKA
0.01 ;BSVALAG1

```



```

$SIGMA 0.2 ;ERRCV, Proportional error (%)
$SIGMA 10 ;ERRSD, Additive error (ug/l)

$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT

$TABLE ID TIME DV IPRED MDV
NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt

$TABLE ID CL V1 Q V2 KA ALAG1 ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 ETA6 WT AGE TXT STER
FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt

```

## 6.5 Kontrollfil for 2-kompartimentmodellen med 3 Erlang-kompartimenter

```

$PROBLEM Takrolimusmodellering

$DATA Input_takrodata5.txt

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER GEN HCT
ALB ASAT

$SUBROUTINE ADVAN5 SS5; Set up differential equation mode

$MODEL COMP=(DEPOT,DEFDOSE) ; Defines the number of compartments
COMP=(DELA1)
COMP=(DELA2)
COMP=(DELA3)
COMP=(CENTRAL,DEFOBS) ; Central compartment
COMP=(PERIPH) ; Pheripheral compartment

$PK ; Define basic pharmacokinetic parameters
K12=THETA(1)*EXP(ETA(1)) ; Rate constant between the delay compartments
K23=K12
K34=K12
K45=K12

CLTV=THETA(2)
V5TV=THETA(3)
V6TV=THETA(4)
QTV=THETA(5)

CL=CLTV*EXP(ETA(2)) ; Clearance
V5=V5TV*EXP(ETA(3)) ; Central volume of distribution
V6=V6TV*EXP(ETA(4)) ; Pheripheral volume of distribution
Q=QTV*EXP(ETA(5)) ; Intercompartment clearance

K50=CL/V5 ; Micro constant between central compartment and out of the system
K56=Q/V5 ; Micro constant between central and peripheral compartment
K65=Q/V6 ; Micro constant between peripheral and central compartment

S5=V5 ; Scale for central compartment

$ERROR
IPRED=F
Y=F+F*ERR(1)+ERR(2) ; Additive and proportional residual error model

```

```

$THETA ;
(1,3.7) ; K12 (B)
(1,19.4) ; CL/F
(1,144) ; V5
(1,317) ; V6
(1,34.9) ; Q/F

$OMEGA ; Variance of interindividual variability
0.1 ; K12

$OMEGA BLOCK(4) ; Variance of interindividual variability
0.1 ; CL
0.02 0.1 ; V5
0.02 0.02 0.1 ; V6
0.02 0.02 0.02 0.1 ; Q

$SIGMA 0.2 ;ERRCV, Proportional error (%)
$SIGMA 10 ;ERRSD, Additive error (ug/l)

$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT

$TABLE ID TIME DV IPRED MDV
NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt

$TABLE ID CL V5 Q V6 ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 WT AGE TXT STER
FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt

```

## 6.6 Kontrollfil for 3-kompartimentmodellen med lag-tid

```

$PROBLEM 3 komp 1. ordens med lagtid

$DATA Input_takrodata.txt

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER CYP HCT ALB
ASAT

$SUBROUTINE ADVAN12

$PK
NCMT=3
CL=THETA(1)*EXP(ETA(1))
V1=THETA(2)*EXP(ETA(2))
CLRA=THETA(3)*EXP(ETA(3))
V2=THETA(4)*EXP(ETA(4))
CLSL=THETA(5)*EXP(ETA(5))
V3=THETA(6)*EXP(ETA(6))
KA=THETA(7)*EXP(ETA(7))
ALAG1=THETA(8)*EXP(ETA(8))

S2=V1

K=CL/V1
K23=CLRA/V1
K24=CLSL/V1
K32=CLRA/V2
K42=CLSL/V3

```

```
$ERROR
  IPRED=F
  Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)

$THETA (10,20.5)   ;CL
$THETA (10,43)    ;V1
$THETA (1,10.9)   ;CLRA
$THETA (1,820)    ;V2
$THETA (1,15.3)   ;CLSL
$THETA (10,605,10000) ;V3
$THETA (0.1,1.45) ;KA
$THETA (0.1,0.45) ;ALAG

$OMEGA BLOCK(6)
0.2
0.002 0.2
0.002 0.002 0.2
0.0001 0.01 0.01 0.2
0.002 0.002 0.002 0.002 0.2
0.002 0.002 0.002 0.002 0.002 0.2

$OMEGA
0.2
0.01

$SIGMA 0.1 ;ERRCV, Proportional error (%)
$SIGMA 10 ;ERRSD, Additive error (ug/l)

$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT

$COVARIANCE

$TABLE ID TIME DV IPRED MDV
NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt

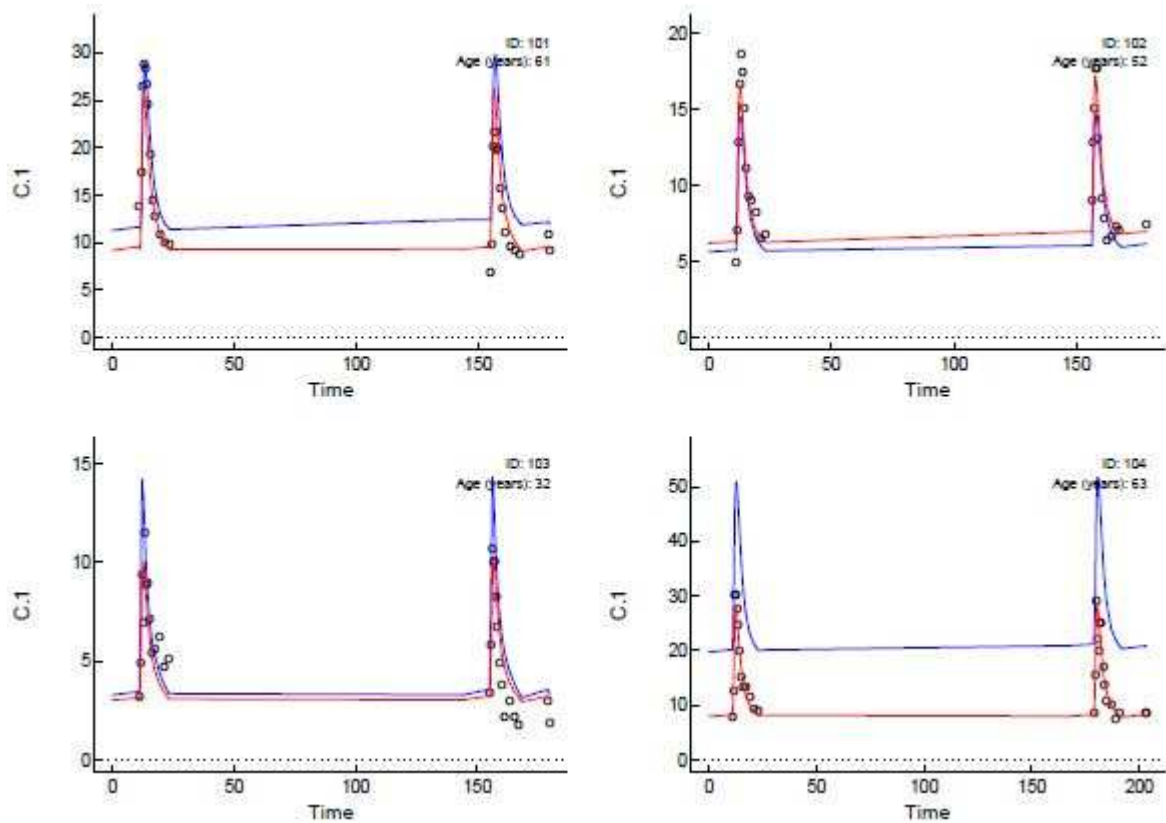
$TABLE ID V1 V2 V3 CL CLRA CLSL ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 WT AGE TXT STER
FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt
```

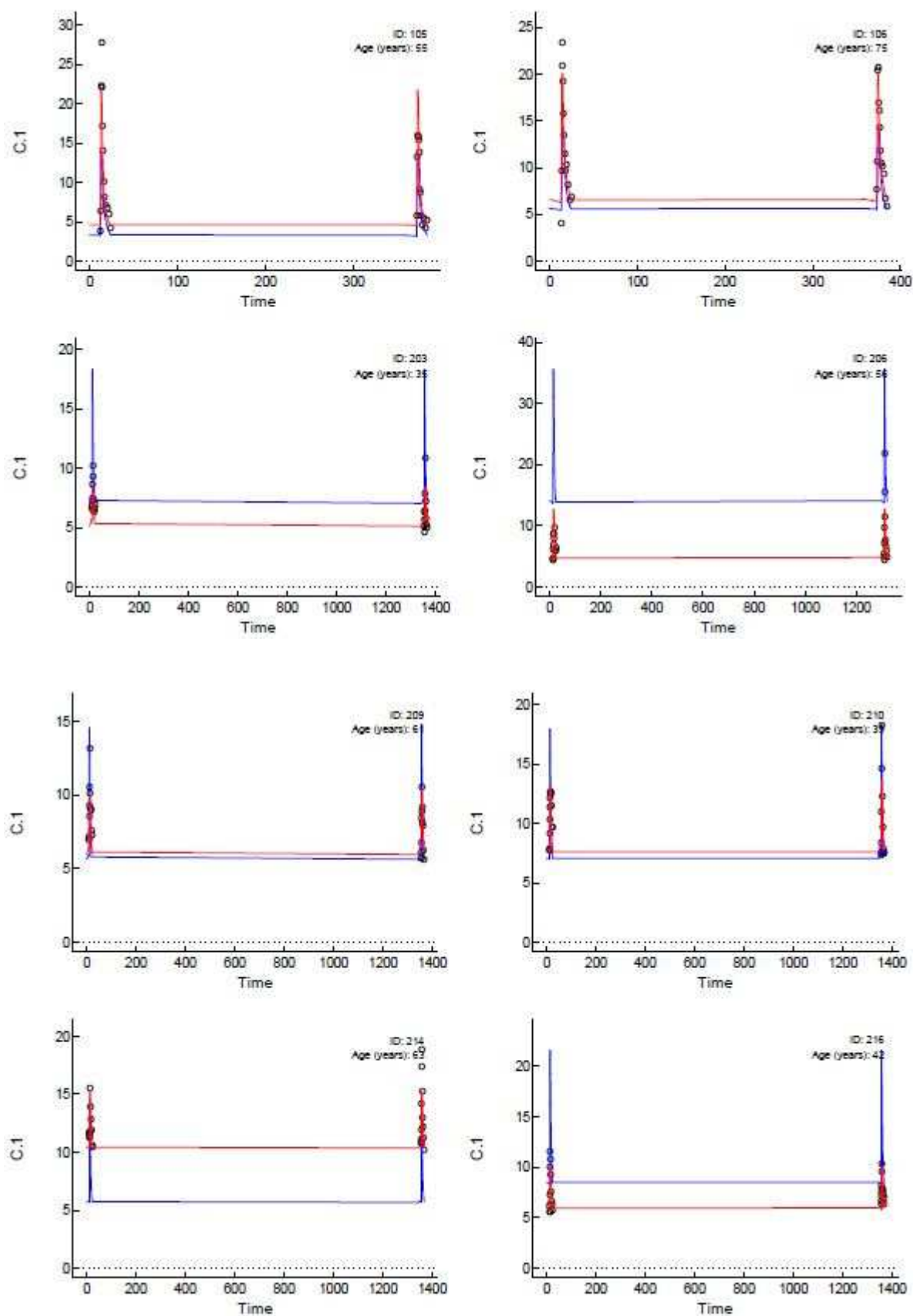
## 6.7 Analyse av 3-kompartimentmodellene med og uten lag-tid

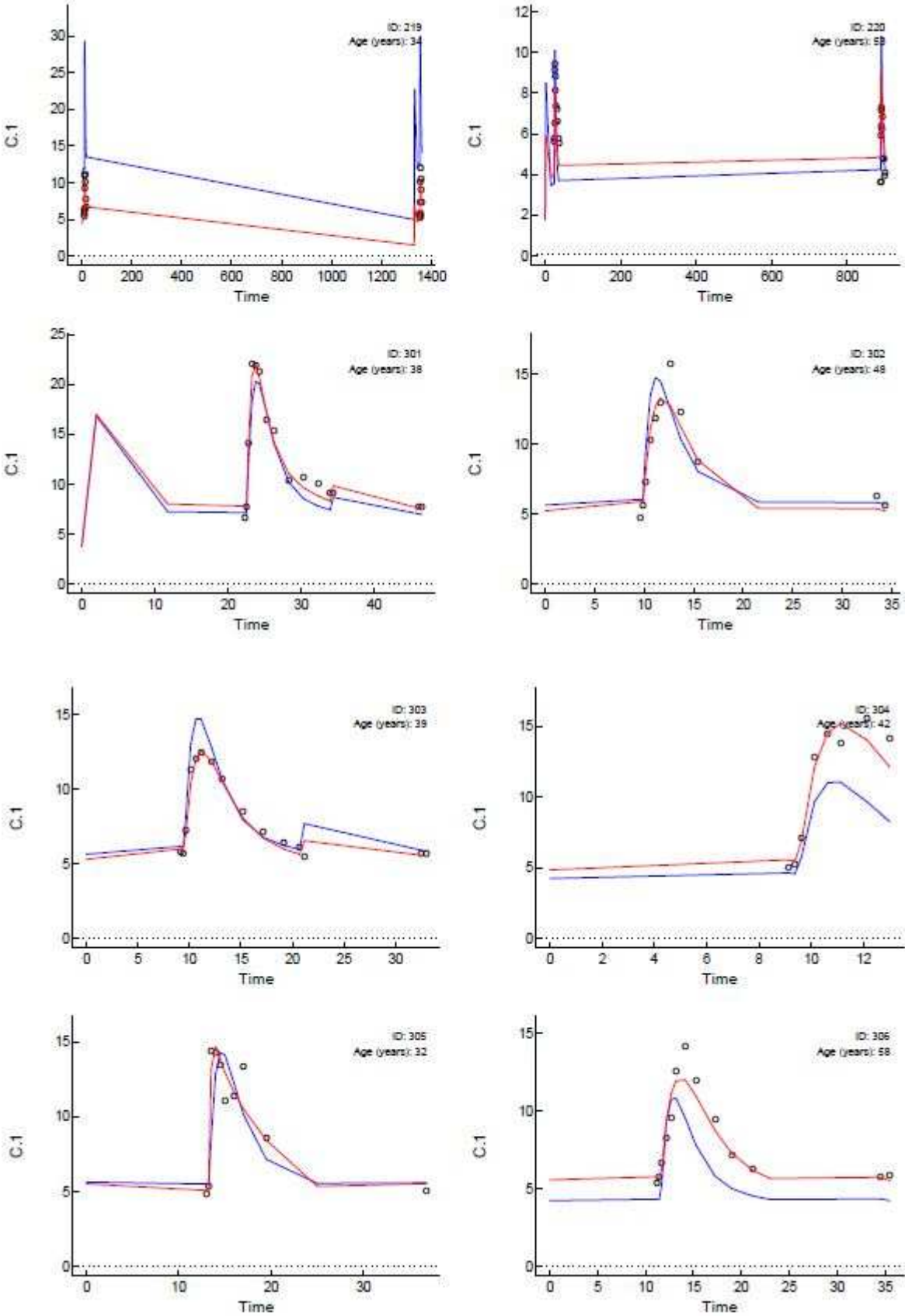
	Gjennomsnitt	Median	Laveste verdi	Høyeste verdi
<i>3-kompartimentmodell med lag-tid</i>				
<b>OFV</b>	1323,9	1325,2	1315,1	1335,7
<i>Parameterverdier</i>				
<b>CL/F (L/t)</b>	21,4	21,5	20,9	21,7
<b>V<sub>1</sub>/F (L)</b>	74,9	57,8	47,7	147,0
<b>Q/F (L/t)</b>	10,6	10,9	1,19	27,4
<b>V<sub>2</sub>/F (L)</b>	117,8	94,0	3,1	533,0
<b>Q<sub>2</sub>/F (L/t)</b>	34,8	37,4	11,0	43,5
<b>V<sub>3</sub>/F (L)</b>	481,3	473,0	196,0	684,0
<b>k<sub>a</sub> (t<sup>-1</sup>)</b>	0,771	0,602	0,503	1,490
<b>ALAG (t)</b>	0,379	0,385	0,288	0,391
<i>Residual variasjon</i>				
<b>Proporsjonell (%)</b>	13,2	13,2	13,1	13,7
<b>Additiv (µg/L)</b>	0,714	0,721	0,601	0,745
<i>Initielle thetaestimer</i>				
<b>CL/F</b>	21,7	22,0	18,0	25,0
<b>V<sub>1</sub>/F</b>	61,8	54,5	43,0	150,0
<b>Q/F</b>	10,7	10,7	7,5	14,0
<b>V<sub>2</sub>/F</b>	208,8	120,0	32,3	820,0
<b>Q<sub>2</sub>/F</b>	26,1	23,2	12,8	40,0
<b>V<sub>3</sub>/F</b>	795	500	187	5630
<b>k<sub>a</sub></b>	1,01	1,15	0,480	1,920
<b>ALAG</b>	0,434	0,447	0,360	0,500
<i>3-kompartimentmodell uten lag-tid</i>				
<b>OFV</b>	1458,3	1458,2	1457,4	1460,0
<i>Parameterverdier</i>				
<b>CL/F (L/t)</b>	21,7	21,7	21,4	22,0
<b>V<sub>1</sub>/F (L)</b>	122,6	123,0	117,0	127,0
<b>Q/F (L/t)</b>	6,01	4,38	1,09	24,40
<b>V<sub>2</sub>/F (L)</b>	100,5	64,4	15,4	522,0
<b>Q<sub>2</sub>/F (L/t)</b>	25,7	28,6	5,83	31,1
<b>V<sub>3</sub>/F (L)</b>	353,2	363,0	66,2	542,0
<b>k<sub>a</sub> (t<sup>-1</sup>)</b>	0,608	0,609	0,600	0,615
<i>Residual variasjon</i>				
<b>Proporsjonell (%)</b>	18,3	18,3	18,2	18,4
<b>Additiv (µg/L)</b>	0,444	0,449	0,418	0,470
<i>Initielle thetaestimer</i>				
<b>CL/F</b>	21,5	21,7	18,0	25,0
<b>V<sub>1</sub>/F</b>	64,3	53,0	43,0	128,0
<b>Q/F</b>	9,92	10,70	3,00	14,00
<b>V<sub>2</sub>/F</b>	209,3	125,0	32,3	820,0
<b>Q<sub>2</sub>/F</b>	22,4	21,3	12,8	33,0
<b>V<sub>3</sub>/F</b>	794	464	187	5630
<b>k<sub>a</sub></b>	1,033	1,150	0,545	1,920
CL/F = clearance; V <sub>1</sub> /F = sentralt distribusjonsvolum; Q/F = interkompartimentell clearance; V <sub>2</sub> /F = perifert distribusjonsvolum; Q <sub>2</sub> /F = interkompartimentell clearance 2; V <sub>3</sub> /F = perifert distribusjonsvolum 2; k <sub>a</sub> = absorpsjonshastighetskonstanten; ALAG = lag-tid				

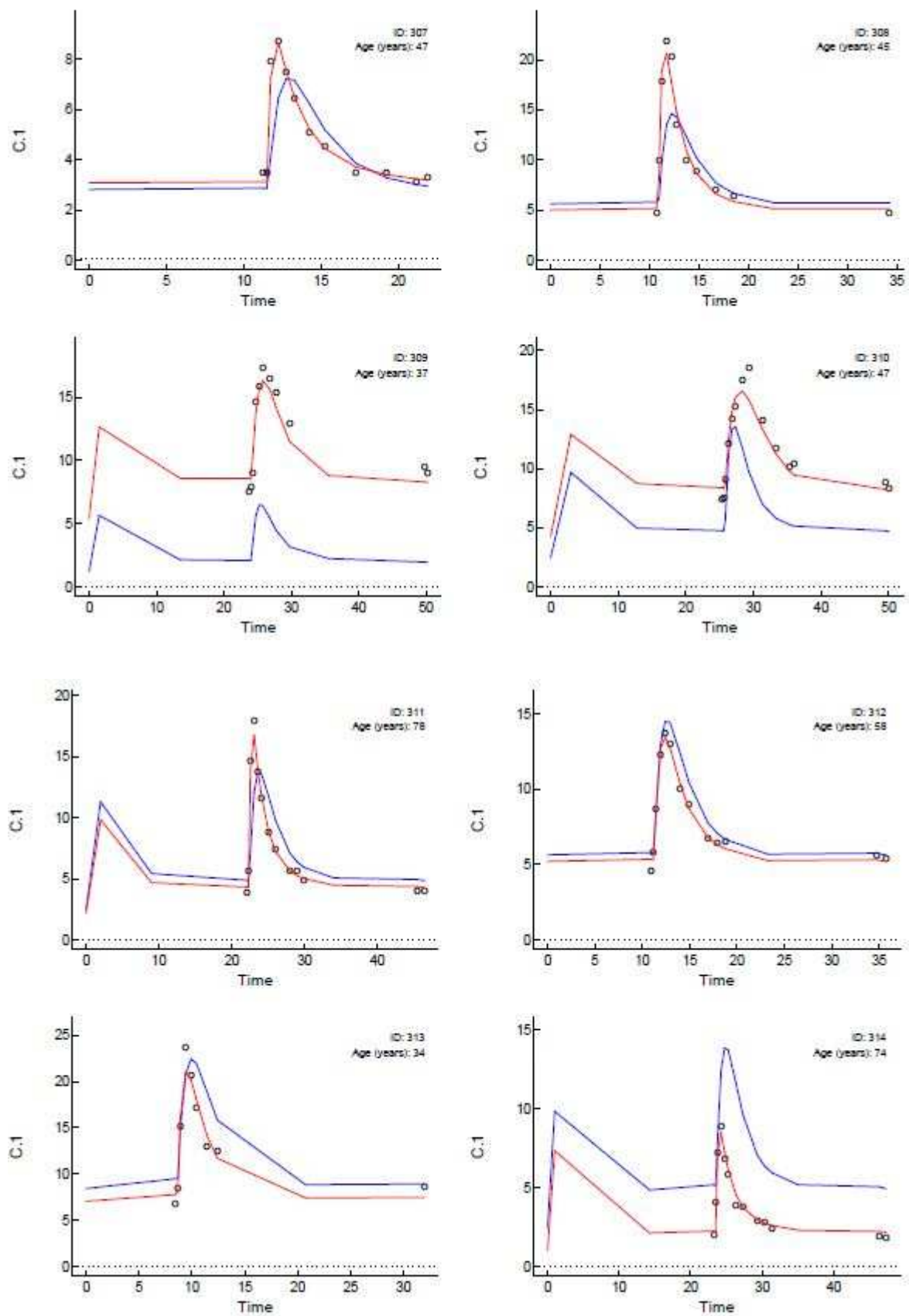
## 6.8 Konsentrasjon/tid-kurver for alle pasientene med den endelige modellen

Sirklene er de observerte konsentrasjonene; De røde linjene (—) er de individuelt predikerte konsentrasjonene (IPRED); De blå linjene (—) er de populasjonspredikerte konsentrasjonene (PRED); ID = pasient

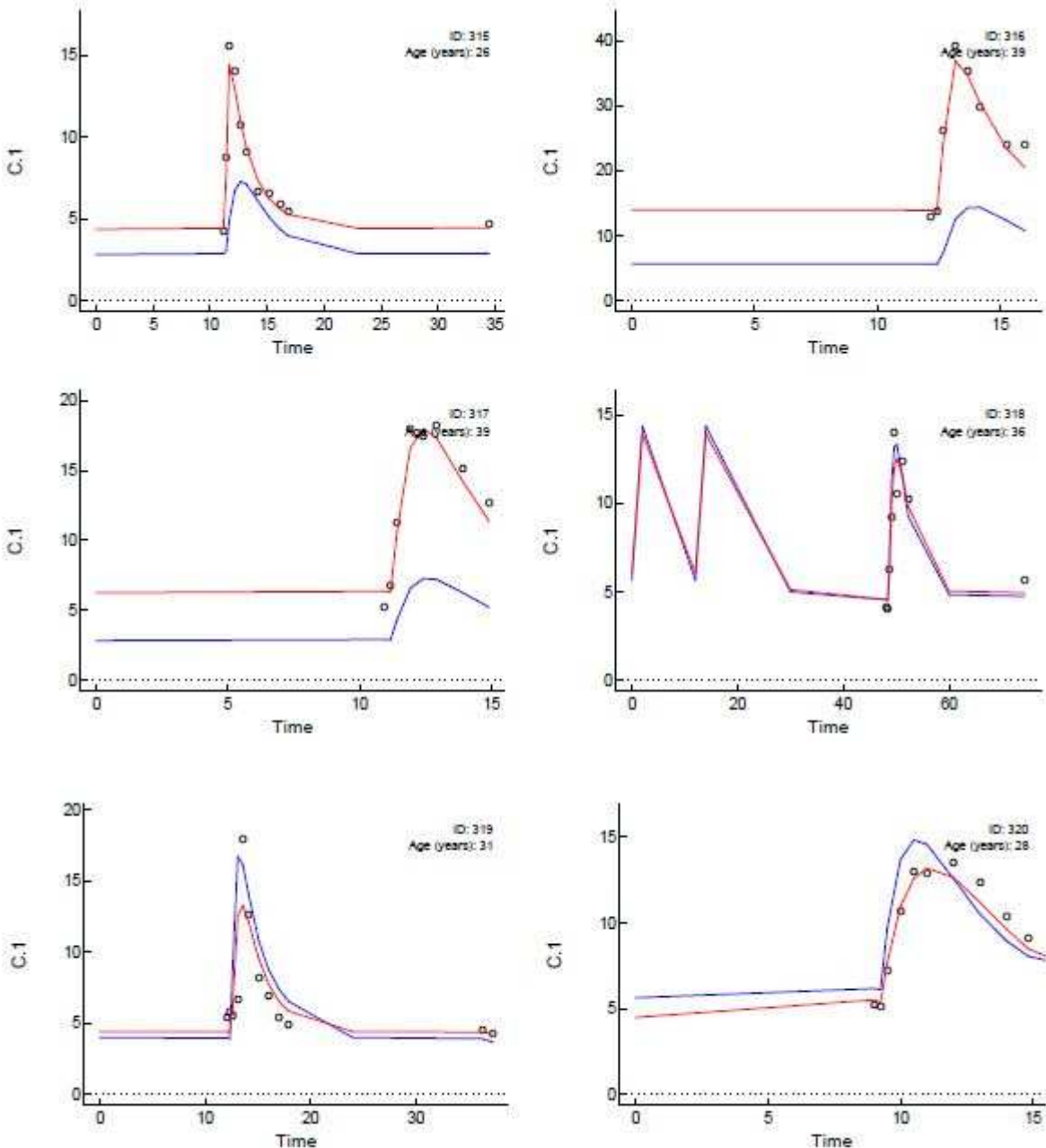












## 6.9 Resultater fra Jackknife

Ekskludert pasient	CL/F (L/t)	V <sub>1</sub> /F (L)	Q/F (L/t)	V <sub>2</sub> /F (L)	k <sub>a</sub> (t <sup>-1</sup> )	ALAG (t)	CL <sub>CYP</sub> /F (L/t)	Q <sub>CYP</sub> /F (L/t)
101	19,3	49,7	36,4	976	0,458	0,385	65,3	120
102	19,6	58,1	39,6	691	0,533	0,383	66,0	113
103	19,4	62,3	41,1	639	0,588	0,376	59,1	103
104	18,9	64,3	39,6	649	0,587	0,371	65,5	116
105	19,3	54,1	38,2	650	0,487	0,317	74,9	157
106	19,6	67,2	40,8	714	0,589	0,372	65,5	117
203	19,1	62,0	41,0	637	0,598	0,373	65,5	117
206	18,8	61,0	39,6	643	0,584	0,368	65,7	115
209	19,4	61,7	40,4	643	0,587	0,372	65,5	116
210	19,4	62,2	40,7	619	0,591	0,373	65,4	117
214	19,7	61,9	40,5	652	0,583	0,373	65,4	116
216	19,1	59,5	39,1	664	0,568	0,373	65,5	114
219	18,9	63,0	41,3	628	0,602	0,370	65,5	117
220	19,4	63,6	38,9	726	0,584	0,377	65,4	117
301	19,5	65,0	40,2	690	0,585	0,373	65,5	116
302	19,4	63,6	41,4	643	0,591	0,373	65,5	117
303	19,4	63,0	40,5	661	0,584	0,373	65,5	116
304	19,6	64,2	42,4	651	0,585	0,376	65,4	116
305	19,5	68,9	39,1	746	0,592	0,374	65,4	117
306	19,6	63,9	42,0	639	0,593	0,374	65,5	117
307	19,4	67,9	39,9	624	0,590	0,374	65,5	116
308	19,4	65,6	41,2	660	0,580	0,381	65,5	116
309	20,3	64,9	42,0	651	0,587	0,373	65,4	116
310	19,7	59,6	42,4	652	0,584	0,382	65,6	117
311	19,4	68,0	40,4	625	0,585	0,374	65,5	117
312	19,4	62,7	40,4	648	0,584	0,383	65,3	116
313	19,3	65,1	40,0	635	0,586	0,375	65,4	116
314	18,9	66,9	39,3	597	0,591	0,373	65,4	118
315	19,7	68,3	40,9	649	0,579	0,378	65,5	116
316	20,0	69,0	41,7	659	0,596	0,376	65,5	118
317	20,0	63,9	42,9	666	0,577	0,383	65,5	116
318	19,5	62,7	40,7	673	0,583	0,377	65,5	116
319	19,4	61,4	40,4	540	0,579	0,370	61,7	97
320	19,4	63,7	42,0	647	0,590	0,374	65,5	117

CL/F = clearance; V<sub>1</sub>/F = sentralt distribusjonsvolum; Q/F = interkompartementell clearance; V<sub>2</sub>/F = perifert distribusjonsvolum; k<sub>a</sub> = absorpsjonshastighetskonstanten; ALAG = lag-tid; CL<sub>CYP</sub>/F = clearance for pasienter med CYP3A5\*1/\*3; Q<sub>CYP</sub>/F = interkompartementell clearance for pasienter med CYP3A5\*1/\*3

## 6.10 Resultater fra data-splitting

Under-gruppe	CL/F (L/t)	V <sub>1</sub> /F (L)	Q/F (L/t)	V <sub>2</sub> /F (L)	k <sub>a</sub> (t <sup>-1</sup> )	ALAG (t)	CL <sub>CYP</sub> /F (L/t)	Q <sub>CYP</sub> /F (L/t)
1	20,9	68,6	43,9	690	0,560	0,384	65,4	116
2	20,7	60,1	44,5	678	0,591	0,382	59,1	104
3	18,5	43,8	31,9	1110	0,420	0,375	76,7	156
4	18,3	61,7	42,8	635	0,603	0,374	65,7	115
5	19,0	63,7	39,9	659	0,598	0,372	65,5	118
6	19,4	63,5	39,0	712	0,591	0,377	65,4	117
7	19,5	63,5	40,5	589	0,581	0,366	61,7	97,4
8	19,6	65,3	41,0	607	0,600	0,372	65,6	117
9	18,9	70,6	37,5	664	0,607	0,372	65,3	118
10	19,7	63,7	39,8	658	0,566	0,375	65,5	115

CL/F = clearance; V<sub>1</sub>/F = sentralt distribusjonsvolum; Q/F = interkompartementell clearance; V<sub>2</sub>/F = perifert distribusjonsvolum; k<sub>a</sub> = absorpsjonshastighetskonstanten; ALAG = lag-tid; CL<sub>CYP</sub>/F = clearance for pasienter med CYP3A5\*1/\*3; Q<sub>CYP</sub>/F = interkompartementell clearance for pasienter med CYP3A5\*1/\*3

## 6.11 Resultater data-splitting – evaluering av prediksjonsevne

Ingen kons.	ME (µg/L)	MSE (µg/L) <sup>2</sup>	RMSE (µg/L)	SPE (mean)	SPE (SD)
Undergruppe 1	-6,392	88,7	6,71	1,861	2,043
Undergruppe 2	-1,485	24,8	3,91	0,379	1,222
Undergruppe 3	7,018	153,3	9,34	-0,507	0,740
Undergruppe 4	9,918	189,4	11,27	-1,074	1,042
Undergruppe 5	2,754	24,1	3,47	-0,539	0,804
Undergruppe 6	0,452	3,0	1,35	-0,132	0,495
Undergruppe 7	-0,724	10,9	2,29	0,190	0,856
Undergruppe 8	0,003	6,2	1,82	-0,001	0,719
Undergruppe 9	1,903	14,1	2,86	-0,457	0,785
Undergruppe 10	-2,027	11,7	2,77	0,605	0,827
Gjennomsnitt	1,140	52,6	4,58	0,032	0,953
SD	4,640	67,7	3,39	0,812	
95 % nedre	-1,730	10,1	2,30	-0,471	
95 % øvre	4,020	100,5	7,02	0,536	
KI beregnet med	z-test	Wilcoxon	Wilcoxon	z-test	

1 kons. (t=0)	ME (µg/L)	MSE (µg/L) <sup>2</sup>	RMSE (µg/L)	SPE (mean)	SD SPE
Undergruppe 1	-4,281	44,34	4,456	0,931	1,124
Undergruppe 2	-0,463	8,92	2,312	0,128	0,823
Undergruppe 3	2,822	43,23	4,933	-0,282	0,595
Undergruppe 4	3,528	64,54	5,238	-0,473	0,975
Undergruppe 5	1,364	18,24	2,915	-0,276	0,826
Undergruppe 6	0,903	6,13	1,824	-0,289	0,747
Undergruppe 7	-1,199	17,05	3,073	0,302	1,004
Undergruppe 8	0,827	6,94	1,821	-0,231	0,705
Undergruppe 9	1,070	9,81	2,245	-0,220	0,612
Undergruppe 10	-0,554	7,78	1,895	0,127	0,633
Gjennomsnitt	0,402	22,7	3,071	-0,028	0,8044
SD	2,201	20,53	1,328	0,415	
95 % nedre	-0,963	8,0	2,07	-0,282	
95 % øvre	1,766	37,2	4,00	0,321	
KI beregnet med	z-test	Wilcoxon	Wilcoxon	Wilcoxon	

2 kons. (t=0,1)	ME (µg/L)	MSE (µg/L) <sup>2</sup>	RMSE (µg/L)	SPE (mean)	SD SPE
Undergruppe 1	-1,839	7,94	2,066	0,249	0,2936
Undergruppe 2	-0,864	5,68	1,759	0,270	0,6999
Undergruppe 3	2,416	27,40	3,671	-0,260	0,5023
Undergruppe 4	-0,389	4,99	1,267	0,114	0,6474
Undergruppe 5	0,143	2,50	1,257	-0,027	0,3002
Undergruppe 6	0,572	4,86	1,583	-0,204	0,7689
Undergruppe 7	-1,240	6,13	1,831	0,284	0,4954
Undergruppe 8	-0,041	2,22	1,145	0,017	0,6424
Undergruppe 9	0,165	4,24	1,539	-0,044	0,5539
Undergruppe 10	-0,907	4,39	1,509	0,242	0,5067
Gjennomsnitt	-0,198	7,04	1,763	0,064	0,5411
SD	1,177	7,35	0,728	0,1995	
95 % nedre	-0,928	3,60	1,36	-0,0596	
95 % øvre	0,531	15,00	2,46	0,1877	
KI beregnet med	z-test	Wilcoxon	Wilcoxon	z-test	

3 kons. (t=0,1,3)	ME (µg/L)	MSE (µg/L) <sup>2</sup>	RMSE (µg/L)	SPE (mean)	SD SPE
Undergruppe 1	-1,281	4,63	1,498	0,168	0,229
Undergruppe 2	-0,396	3,02	1,356	0,106	0,457
Undergruppe 3	1,640	15,36	2,595	-0,206	0,449
Undergruppe 4	-0,404	4,58	1,119	0,115	0,601
Undergruppe 5	-0,038	2,21	1,210	0,008	0,300
Undergruppe 6	0,443	2,97	1,339	-0,151	0,574
Undergruppe 7	-1,089	5,19	1,554	0,233	0,432
Undergruppe 8	0,335	1,96	1,061	-0,117	0,478
Undergruppe 9	-0,312	3,12	1,232	0,081	0,457
Undergruppe 10	-0,591	2,82	1,248	0,154	0,413
Gjennomsnitt	-0,169	4,58	1,421	0,0391	0,439
SD	0,837	3,93	0,44	0,1494	
95 % nedre	-0,688	2,59	1,183	-0,062	
95 % øvre	0,349	8,78	1,857	0,154	
KI beregnet med	z-test	Wilcoxon	Wilcoxon	Wilcoxon	

Alle kons.	ME (µg/L)	MSE (µg/L) <sup>2</sup>	RMSE (µg/L)	SPE (mean)	SD SPE
Undergruppe 1	-0,493	1,242	0,846	0,0620	0,128
Undergruppe 2	-0,093	1,404	0,971	0,0240	0,307
Undergruppe 3	0,059	4,929	1,608	-0,0086	0,326
Undergruppe 4	0,098	3,492	1,148	-0,0258	0,494
Undergruppe 5	-0,080	1,061	0,837	0,0165	0,213
Undergruppe 6	0,013	1,237	0,916	-0,0047	0,415
Undergruppe 7	-0,065	1,912	0,885	0,0142	0,306
Undergruppe 8	-0,068	0,899	0,685	0,0288	0,404
Undergruppe 9	0,012	1,763	0,938	-0,0033	0,358
Undergruppe 10	-0,085	1,828	0,962	0,0229	0,367
Gjennomsnitt	-0,0701	1,977	0,980	0,0126	0,332
SD	0,1627	1,269	0,250	0,0246	
95 % nedre	-0,217	1,23	0,837	-0,0026	
95 % øvre	0,015	3,08	1,222	0,0278	
KI beregnet med	Wilcoxon	Wilcoxon	Wilcoxon	z-test	

## 6.12 Kontrollfil for den endelige reduserte modellen

```

$PROBLEM Takrolimusmodellering

$DATA Input_TACred.txt

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER CYP HCT ALB
ASAT

$SUBROUTINE ADVAN4

$PK
TVCL=THETA(1)*CYP+THETA(7)*(1-CYP)-(THETA(8)*(ASAT/22.5))

TVV1=THETA(2)

TVQ=THETA(3)

TVV2=THETA(4)

TVKA=THETA(5)

TVALAG=THETA(6)-THETA(9)/((WT/84.6)*EXP(0.75))

CL=TVCL*EXP(ETA(1))           ;Clearance (CL/F) L/hr
V1=TVV1*EXP(ETA(2))           ;Central volume (V1/F), L
Q=TVQ*EXP(ETA(3))             ;Intercompartmental clearance (Q/F)
V2=TVV2*EXP(ETA(4))           ;Peripheral volume (V2/F), L
KA=TVKA*EXP(ETA(5))           ;Absorption rate constant, 1/hr
ALAG1=TVALAG*EXP(ETA(6))      ;Absorption lag time, hr

S2=V1

K=CL/V1
K23=Q/V1
K32=Q/V2

$ERROR
IPRED=F
Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)

$THETA (1,29.9)   ;THETA(1) is POPCL/F
$THETA (1,60.4)   ;THETA(2) is POPV1/F
$THETA (1,48.6)   ;THETA(3) is POPQ/F
$THETA (1,836)    ;THETA(4) is POPV2/F
$THETA (0.1,0.600) ;THETA(5) is POPKA
$THETA (0.1,0.860) ;THETA(6) is POPLAGTIME
$THETA (1,74.0)   ;7
$THETA (1,8.70)   ;8
$THETA (0.1,0.846) ;9

$OMEGA
0.2   ;BSVCL/F
0.4   ;BSVV1/F
0.3   ;BSVQ/F
0.4   ;BSVV2/F

```

0.01 ;BSVKA  
0.01 ;BSVALAG1

\$SIGMA 0.1 ;ERRCV, Proportional error (%)  
\$SIGMA 0.2 ;ERRSD, Additive error (ug/ml)

\$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT

\$TABLE ID TIME DV IPRED MDV  
NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt

\$TABLE ID CL V1 Q V2 KA ALAG1 ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 ETA6 WT AGE TXT STER  
FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt